

## **Mehiläisten bakteeri- ja sienitaudit**

Eläinlääketieteen lisensiaatintutkielma

Minna Kontu

Eläinlääketieteellinen mikrobiologia ja epidemiologia

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

2019



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto – Avdelning – Department Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto	
Tekijä – Författare – Author Minna Kontu			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Mehiläisten bakteeri- ja sienitaudit			
Oppiaine – Läroämne – Subject Eläinlääketieteellinen mikrobiologia ja epidemiologia			
Työn laji – Arbetets art – Level Lisensiaatintutkielma – kirjallisuuskatsaus	Aika – Datum – Month and year 3/2019	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 42	
<p>Tiivistelmä – Referat – Abstract</p> <p>Suomalaisilla eläinlääkäreillä on verrattain vähän tietämystä mehiläistaudeista, sillä niitä ei juurikaan käsitellä eläinlääkäreiden koulutuksen aikana. Valvottaviin eläintauteihin, joihin kuuluu myös mehiläistauteja, liittyvät toimenpiteet kuuluvat Suomessa virkaeläinlääkäreille, mikä vahvistaa tarvetta lisätä eläinlääkäreiden tietämystä aiheesta. Tämä työ kokoaa yhteen vertaisarvioitua, virkaeläinlääkäreiden käyttöön sopivaa suomenkielistä tietoa mehiläisten bakteeri- ja sienitautien tartunnallisuudesta, leviämisestä, diagnosoinnista ja torjunnasta.</p> <p>Tarhatulla mehiläisellä on tärkeä merkitys maatalouden pölyttäjänä ja hunajatuotteiden tuottajana. Mehiläisten avoimet tuotanto-olosuhteet tekevät ne kuitenkin alttiiksi tarttuville taudeille ja muille ympäristön uhkille. Suomessa tarhamehiläisillä esiintyy useita tarttuvia tauteja, joista osan merkitys on mehiläisyhteiskunnan kannalta hyvin pieni, kun taas osa voi aiheuttaa jopa mehiläisyhteiskuntien kuolemia.</p> <p>Tärkein tarhamehiläisiä vaivaava bakteeritauti Suomessa ja maailmalla on toukkavaiheen tauti esikotelomätä, jonka aiheuttaa <i>Paenibacillus larvae</i> -bakteeri. Tauti leviää itiöiden välityksellä ja voi aiheuttaa mehiläistarhaajille huomattavia taloudellisia tappioita. Toinen toukkavaiheen bakteeritauti on toukkamätä, jonka aiheuttaa <i>Melissococcus plutonius</i> -bakteeri. Toukkamätä tarttuu bakteerisolujen kautta ja on tavallisesti kliinisiltä oireiltaan esikotelomätää lievempi.</p> <p>Tärkeimmät Suomessa esiintyvät sienitaudit ovat nosematoosi ja kalkkisikiö. Nosematoosi on <i>Nosema apis</i>- ja <i>Nosema ceranae</i>-loissienten aiheuttama aikuisen mehiläisen tauti, jota esiintyy yleisesti koko maailmassa. Nosematoosi aiheuttaa mehiläisyhteiskunnissa ongelmia tavallisesti loppupalvesta ja alkukeväästä. Toinen yleinen sienitauti, kalkkisikiö, on <i>Ascosphaera apis</i> -sienen aiheuttama toukkavaiheen tauti. Tauti on saanut nimensä kuolleiden toukkien kuivuneista, valkean tai mustan rihmaston peittämistä ruumiista.</p> <p>Tarhamehiläisiä vaivaavat myös useat loiset ja virustaudit, jotka on kuitenkin rajattu tämän työn ulkopuolelle. Näistä tärkeimpänä mainittakoon Suomessa yleisesti esiintyvä varroapunkki (<i>Varroa destructor</i>), joka levittää useita tappavia virustauteja. Lisäksi muualla Euroopassa ja maailmalla esiintyy tauteja, jotka saattavat uhata myös suomalaisia tarhamehiläisiä.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords mehiläinen, bakteeritaudit, sienitaudit			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) – Instruktör och ledare – Director and Supervisor(s) Anna-Maija Virtala (johtaja), Silja Åvall-Jääskeläinen (ohjaaja), Joanna Koort (ohjaaja), Sirpa Heinikainen (ohjaaja)			

## SISÄLLYS

1 JOHDANTO .....	1
2 YLEISTÄ.....	2
2.1 Mehiläinen tuotantoeläimenä .....	2
2.2 Mehiläisen elämänvaiheet .....	3
2.3 Maailman mehiläistautitilanne .....	4
2.4 Tartuntojen leviäminen ja torjunta .....	6
2.5.1 Yhteiskuntataso .....	10
2.5.2 Yksilötaso .....	11
3 BAKTEERITAUDIT .....	13
3.1 Esikotelomätä ( <i>Paenibacillus larvae</i> ) .....	13
3.1.1 Yleistä.....	13
3.1.2 Tartunta ja patogeneesi.....	14
3.1.3 Taudinaiheuttamiskyky .....	15
3.1.4 Diagnoosi.....	16
3.2 Toukkamätä ( <i>Melissococcus plutonius</i> ) .....	17
3.2.1 Yleistä.....	17
3.2.2 Tartunta ja patogeneesi.....	18
3.2.3 Taudinaiheuttamiskyky .....	19
3.2.4 Diagnoosi.....	20
4 SIENITAUDIT .....	20
4.1 Nosematoosi ( <i>Nosema apis</i> ja <i>Nosema ceranae</i> ) .....	20
4.1.1 Yleistä.....	20
4.1.2 Tartunta ja patogeneesi.....	22
4.1.3 Taudinaiheuttamiskyky .....	22
4.1.4 Diagnoosi.....	24
4.2 Kalkkisikiötauti ( <i>Ascosphaera apis</i> ) .....	24
4.2.1 Yleistä.....	24
4.2.2 Tartunta ja patogeneesi.....	25
4.2.3 Taudinaiheuttamiskyky .....	26
4.2.4 Diagnoosi.....	26
4.3 Kivisikiötauti ( <i>Aspergillus</i> spp.) .....	27
4.3.1 Yleistä.....	27
4.3.2 Tartunta ja patogeneesi.....	28

4.3.3 Taudinaiheuttamiskyky .....	28
4.3.4 Diagnoosi.....	29
3 POHDINTA .....	29
4 LÄHDELUETTELO .....	32

# 1 JOHDANTO

Tämä kirjallisuuskatsaus valottaa Suomessa esiintyviä ja suomalaisia tarhattuja mehiläisiä mahdollisesti uhkaavia mehiläisten tarttuvia tauteja. Työ rajataan bakteeri- ja sienitauteihin, mutta on hyvä huomioida, että tarhamehiläisillä esiintyy myös merkittäviä virus- ja loistauteja, joita ei tässä työssä käsitellä. Esimerkiksi varroapunkin ja sen välittämien virustautien merkitys on mehiläistarhauksen kannalta suuri. Muihin tuotantoeläimiin verrattuna tautien tartunnallisuus on mehiläisillä vaikeammin hallittavissa, sillä lentämisen rajoittaminen ja suljetut tuotanto-olosuhteet eivät ole mehiläistarhauksessa tarkoituksenmukaisia. Taudit leviävät mehiläispesien välillä erityisesti harhalentojen ja kaluston mukana. Työssä selvitetään myös mehiläistautien tartuntakykyä muihin eläimiin kuten luonnossa eläviin pölyttäjiin ja minkälaisia uhkia tämä mahdollisesti luo ympäristölle.

Vakavat bakteerien ja sienten aiheuttamat mehiläistautitapaukset ovat suomalaisilla mehiläistarhoilla harvinaisia. Viime aikoina maailmanlaajuisesta pölyttäjien vähentymisestä on kuitenkin alettu huolestua (Geldmann & González-Varo 2018), ja Suomessakin voi olla aihetta huoleen. Meille voi myös tulevaisuudessa tulla uusia, vakavia mehiläisten tartuntatauteja esimerkiksi Etelä-Euroopasta tai Aasiasta. Aiheeseen saattaa siis jatkossa eläinlääkärien ammatissa törmätä nykyistä useammin.

Viime vuosina mehiläistarhaajien ja samalla tuottavien mehiläispesien lukumäärä on Suomen Mehiläishoitajain Liiton tilastojen mukaan lisääntynyt (SML 2018), mikä voi kasvattaa mehiläisiin liittyvää työtä eläinlääkäreidenkin osalta. Mehiläistarhauksen suosion kasvu voi myös tuoda mukanaan lieveilmiöitä kuten tiedonpuutteita tauteihin ja niiden torjuntaan tai sisämarkkinakauppaan liittyvissä asioissa. Tämän liseniaatintyön tavoitteena on tuottaa pääasiassa eläinlääkäreiden, mutta myös mehiläistarhaajien, käyttöön tiivis sekä helposti saatavilla oleva ja ymmärrettävä opas tärkeimmistä mehiläisten bakteeri- ja sienitaudeista. Painotus pidetään mikrobiologisessa näkökulmassa, mutta mukaan otetaan kliinistä puolta siten, että tutkielmasta olisi hyötyä myös eläinlääkäreiden käytännön työssä.

## 2 YLEISTÄ

### 2.1 Mehiläinen tuotantoeläimenä

Mehiläistarhaus on Suomessa kasvava ala. Tällä hetkellä Suomessa on arviolta yli 3 000 mehiläistarhaajaa ja noin 55 000 tuottavaa mehiläispesää, ja molempien määrät ovat viime vuosina olleet kasvussa (SML 2018). Tarhatut mehiläiset ovat tuotantoeläimiä, joita pidetään eri mehiläistuotteiden, kuten hunajan, mehiläisvahan, propoliksen, siitepölyn ja pergan, tuottamiseksi (kirjassa Blackiston 2009). Propolis eli kittivaha (kuva 1) on mehiläisten tuottamaa ainetta, jota mehiläiset käyttävät pesässä esimerkiksi rakenteiden tiivistämiseen tai aukkojen tilkitsemiseen (kirjassa Blackiston 2009). Pergaa eli mehiläisleipää (kuva 2) syntyy kennoissa siitepölystä maitohappokäymisen seurauksena (kirjassa Blackiston 2009).

Tarhatut mehiläiset pölyttävät suuren osan luonnon kasveista ja kaupallisista viljelyskasveista – maailmanlaajuisesti maatalouden viljelyskasveista 75 %:n arvioidaan vaativan pölytystä (Geldmann & González-Varo 2018). Pölytyksestä ovat tuhansien mehiläislajien lisäksi vastuussa useat luonnon pölyttäjähyönteiset kuten ampiaiset ja perhoset, mutta tärkeimpänä kaupallisten viljelyskasvien pölyttäjänä pidetään tarhamehiläistä (*Apis mellifera*) (Geldmann & González-Varo 2018). Tarhamehiläinen on maailman yleisin tarhattu mehiläislaji (kirjassa Blackiston 2009). Toinen merkittävä tarhattu mehiläislaji on Aasiasta kotoisin oleva intianmehiläinen (*Apis cerana*), jota pidetään yleisesti kotiseuduillaan (Chen ym. 2017).



Kuva 1. Propolista eli kittivahaa

Kuva: Perttu Kontu



Kuva 2. Pergaa eli mehiläisleipää

Kuva: Perttu Kontu

Tarhamehiläisen osa maatalouden pölyttäjänä sekä sen avoimet tuotanto-olosuhteet ja siten kontakti ympäröivään luontoon tekevät siitä ainutlaatuisen tuotantoeläimen. Eri tutkimusten mukaan tarhatuilla mehiläisillä voi olla negatiivinen vaikutus ympäröivään luontoon – ne saattavat kilpailla samoista resursseista luonnon pölyttäjien kanssa, levittää tauteja eri eläinlajeihin ja muuttaa luonnon kasvipopulaatiota (Mallinger ym. 2017). Tarhamehiläisten medenkeruumatkat ulottuvat tavallisesti 1–3 kilometrin päähän pesästä, mutta lentoetäisyys voi parhaimmillaan olla jopa yli viisi kilometriä, joten mahdollinen vaikutus ympäristöön voi olla laaja-alaista (Hagler ym. 2011, Couvillon ym. 2015).

## 2.2 Mehiläisen elämänvaiheet

Mehiläisellä on neljä elämänvaihetta: muna-, toukka-, kotelo- ja aikuisvaihe (kirjassa Blackiston 2009). Kehittymisaika munasta aikuiseksi riippuu siitä, onko kyseessä työmehiläinen, kuhnuri vai emo eli kuningatar: kuhnurilta kehittyminen vie noin 24 päivää, työmehiläiseltä noin 21 ja emolta noin 16. Emo munii työmehiläisten valmistelemaan kennoon munan, josta kuoriutuu kolmen päivän kuluttua mehiläistoukka. Toukan ensimmäisiä päiviä kutsutaan avosikiövaiheeksi, sillä kenno pidetään avonaisena toukan ruokkimisen mahdollistamiseksi (kuva 3). Työmehiläistoukan avosikiövaihe kestää noin viisi päivää, minkä jälkeen aikuiset työmehiläiset sulkevat kennon mehiläisvahasta valmistetulla huokoisella kannella. Toukka siirtyy kotelo- eli peittosikiövaiheeseen, jonka aikana toukasta kehittyy aikuinen mehiläinen (kuva 3). Työmehiläisen peittosikiövaihe kestää noin 12 päivää (kirjassa Blackiston 2009). Peittosikiövaiheen päätteeksi mehiläinen syntyy kotelosta valmiina aikuisena (kuva 4).

Työmehiläinen tekee suuren osan pesän töistä ja työtehtävät jakautuvat iän mukaan. Syntymänsä jälkeen työmehiläinen viettää pesässä noin kolme viikkoa (Goblirsch ym. 2013). Tänä aikana se toimii ensin ruokkijamehiläisenä avosikiövaiheessa oleville toukille ja vanhetessaan pitää pesän siistinä ja puolustaa pesää tunkeutujilta. Kolmen viikon jälkeen nuori työmehiläinen siirtyy kenttämehiläiseksi eli meden- ja siitepölynhakijaksi ja voi tehdä pitkiäkin lentoja pesän ulkopuolelle. Riippumatta työmehiläisen tarkasta iästä se elää lentovaiheeseen siirryttyään 2–3 viikkoa (Goblirsch ym. 2013). Tämän takia työmehiläisten elinikä vaihtelee huomattavasti: kesällä elinikä on korkeintaan kuusi viikkoa, mutta talven yli pesässä pysyvä työmehiläinen voi elää jopa 6–8 kuukautta (kirjassa Blackiston 2009).



Kuva 3. Alareunassa kennokansien peittämiä peittosikiöitä, ympärillä avosikiövaiheessa olevia toukkia.

Kuva: Perttu Kontu



Kuva 4. Työmehiläinen auttaa peittosikiövaiheen päättäneen aikuisen kuhnurin ulos kennostaan.

Kuva: Perttu Kontu

### 2.3 Maailman mehiläistautitilanne

Kiinnostus tarhattuja mehiläisiä ja muita pölyttäjiä kohtaan on viime vuosina kasvanut, sillä eri puolilla maailmaa on havaittu mehiläisyhteiskuntien romahtamisia tuntemattomasta syystä (Neumann & Carreck 2010). Pesän romahtamisella tai pesänmenetyksellä tarkoitetaan nopeaa mehiläispesän työmehiläisten katoamista tai kuolemista usein tuntemattomasta syystä (McMenamin & Genersch 2015). Yleisesti tästä käytetään nimitystä mehiläisyhteiskuntien romahdushäiriö eli CCD (engl. *colony collapse disorder*). Merkittävimmät pesänmenetykset on raportoitu Yhdysvalloissa ja Euroopassa (Neumann & Carreck 2010). CCD:n syiksi on arveltu muun muassa tartuntatauteja, loisia, ilmastonmuutosta ja maataloudessa käytettyjä torjunta-aineita sekä näiden yhteisvaikutuksia (McMenamin & Genersch 2015). Vuonna 2015 myös Suomessa on havaittu joitakin mehiläisyhteiskuntien joukkokuolemia, jotka ovat saattaneet johtua kasvinsuojeluaineiden käytöstä (Tukes 2016). Romahdushäiriö ei koske ainoastaan tarhattuja mehiläisiä, vaan myös luonnossa elävien pölyttäjien lukumäärä on ollut viime vuosina laskeva, mihin jotkut tutkijat pitävät osasyllisinä tarhattuja mehiläisiä (Geldmann & González-Varo 2018).

Taudin heikentämä pesä tuottaa heikommin hunajaa ja uusia mehiläisiä ja on suuremmassa vaarassa kuolla esimerkiksi talvikauden aikana. Suomessa esiintyy myös lakisääteisiä toimenpiteitä aiheuttavia mehiläistauteja, joiden esiintyminen tuottaa mehiläistarhaajille ajallisia ja rahallisia tappioita. Suomessa mehiläistaudeista yleisin ja



eniten haittaa aiheuttava taudinaiheuttaja on varroapunkki (*Varroa destructor*), jonka mukana leviää myös erilaisia virustauteja (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). Bakteeritaudeista eniten tarhaajille aiheuttaa haittaa *Paenibacillus larvae* -bakteerin aiheuttama esikotelomätä, joka on myös tutkituin mehiläistäutimme – suurin osa Ruokavirastoon lähetettävistä näytteistä on esikotelomätänäytteitä. Varroapunkkia ei tavallisesti tutkita laboratorioissa, sillä se on helppo tunnistaa ilman apuvälineitäkin (Ruokavirasto 2019c).

Esikotelomädän ja varroosin lisäksi mehiläisyhteiskuntia vaivaavat myös useat muut taudit. Muun muassa *Nosema apis*- ja *Nosema ceranae* -sienten aiheuttamaa nosematoosia esiintyy Suomessa yleisesti, mutta se ei juurikaan aiheuta pesissä klinisiä oireita (Ruokavirasto 2019a). Lisäksi satunnaisia suomalaisilla tarhoilla tavattavia mehiläistäuteja ovat *Melissococcus plutonius* -bakteerin aiheuttama eurooppalainen toukkamätä, *Ascosphaera apis* -sienen aiheuttama kalkkisikiötauti ja *Acarapis woodi* -punkin aiheuttama akariaasi (Ruokavirasto 2019c).

Esikotelomätä on ainut Suomessa esiintyvä Manner-Suomen vastustettaviin, valvottaviin eläintauteihin kuuluva mehiläistäuti (MMM 843/2013, 5 §). Ahvenanmaan maakunnassa, jossa ei esiinny varroapunkkia, myös varroosi kuuluu esikotelomädän ohella valvottaviin eläintauteihin (MMM 843/2013, 5 §). Valvottaviin eläintauteihin kuuluvat koko Suomen alueella myös *Tropilaelaps*-suvun punkit ja pieni pesäkuoriainen eli *Aethina tumida* (MMM 843/2013, 5 §), joita ei ole vielä koskaan todettu Suomessa (Ruokavirasto 2019d, Ruokavirasto 2019e). Nosematoosi, eurooppalainen toukkamätä ja akariaasi luokitellaan kuukausittain aluehallintovirastolle ilmoitettaviksi eläintaudeiksi (MMM 1010/2013, 8 §).

Maailman eläntäitijärjestö OIE luokittelee vuosittain päivitetävässä Terrestrial Animal Health Code -julkaisussaan tärkeitä eläintauteja Euroopassa ja maailmalla. Uusimmassa julkaisussa mainitaan mehiläistenhoidon kannalta olennaisiksi taudeiksi tai taudinaiheuttajiksi sisuspunkki, esikotelomätä, toukkamätä, pieni pesäkuoriainen, *Tropilaelaps*-suvun punkit sekä varroosi (OIE 2018). *Tropilaelaps*-suvun punkkeja lukuun ottamatta näitä kaikkia on vuoden 2018 aikana todettu eri Euroopan maissa (OIE 2019). *Tropilaelaps*-punkkeja ei ole vielä koskaan esiintynyt Euroopassa (OIE 2019). Euroopassa uusi tulokas on pieni pesäkuoriainen, jota havaittiin italialaisessa mehiläisyhteiskunnassa ensimmäisen kerran vuonna 2014 ja jota sen jälkeen on esiintynyt Italian alueella vuosittain (IZS Ve 2018).

Mehiläistaudit ovat mahdollinen uhka myös luonnossa eläville pölyttäjälajeille kuten kimalaisille (*Bombus* spp.), ja useiden tutkimusten perusteella lajienvälisistä tartunnoista on näyttöä (Zhang ym. 2012). Tautitartunnat voivat levitä luonnon pölyttäjiin esimerkiksi yhteisistä medenkeräyskukista (Fürst ym. 2014). Useiden tarhattujen mehiläisten virustautien, kuten mustaemokennoviruksen ja siivensurkastajaviruksen, on havaittu voivan tarttua eri pistiäislajeihin (Zhang ym. 2012). Tutkimuksessaan Peng ym. (2011) havaitsivat myös tarhamehiläisten mustaemokennoviruksen olevan tartuntakykyinen *B. huntii* -kimalaislajille, vaikka virus ei aiheuta kimalaisessa selviä kliinisiä oireita. Fürst ym. (2014) taas tartuttivat siivensurkastajaviruksen kontukimalaiseen (*B. terrestris*). Samassa tutkimuksessa myös *Nosema ceranae* -sienitauti pystyttiin tartuttamaan kontukimalaiseen (Fürst ym. 2014). Vuonna 2015 havaittiin myös ensimmäinen kalkkisikiötartunta aikuisissa kimalaisissa (Maxfield-Taylor ym. 2015).

#### 2.4 Tartuntojen leviäminen ja torjunta

Taudinaiheuttajat voivat levitä mehiläispesässä nopeasti. Yhteiskunnan sisällä toukkavaiheen taudit leviävät usein toukista huolehtivien nuorten työmehiläisten välityksellä toukasta toiseen (Aronstein & Murray 2010). Itiöitä muodostavien bakteeripatogeenien leviämisen tehokkuus riippuu osin siitä, kuinka nopeasti työmehiläiset poistavat kuolleet toukat pesästä – mitä kauemmin toukat saavat mädäntyä kennoissaan, sitä enemmän itiöitä muodostuu ja sitä helpommin tauti tartuttaa uusia toukkia (Rauch ym. 2009).

Työmehiläiset eivät ainoastaan siirrä taudinaiheuttajia yhteiskunnan sisällä vaan toimivat taudinvälittäjinä myös mehiläispesien välillä esimerkiksi harhalentojen tai pesänryöstöjen yhteydessä (McKee ym. 2003). Pesänryöstöllä tarkoitetaan hunajan varastamista toisesta mehiläisyhteiskunnasta esimerkiksi silloin, kun luonnollisia mesilähteitä on vain vähän saatavilla. Pesänryöstöjen yhteydessä varastava mehiläinen voi kantaa taudinaiheuttajan mukanaan kotipesään muun muassa hunajan mukana, sillä monet taudinaiheuttajat säilyvät hyvin hunajassa (McKee ym. 2003). Varmin tapa estää pesänryöstöjä on huolehtia, että pesät pysyvät riittävän terveinä ja vahvoina ja että mesilähteitä on riittävästi saatavilla pesien lähellä (kirjassa Ruottinen ym. 2003).

Itiöt ovat usein myös hyvin kestäviä ja voivat säilyä jopa vuosia tartuntakykyisinä esimerkiksi pesän rakenteissa (Aronstein & Murray 2010). Mehiläistarhaaja voikin

tahattomasti toimia tautitartunnan välittäjänä mehiläispesien ja kalustojen siirroissa tai esimerkiksi työkalujen tai vaatteiden välityksellä (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). Kokonaisten pesien myynnissä ja siirrossa oireeton tautitartunta voi siirtää taudinaiheuttajan kokonaan uudelle alueelle. Maailmalla viime vuosina mehiläisyhteiskuntien romahdushäiriöstäkin syytetyn tautikaksikon, varroapunkin ja siivensurkastajaviruksen, on todettu siirtyneen uusille alueille todennäköisesti kansainvälisen kaupankäynnin seurauksena infektoituneiden mehiläisten tai muun saastuneen materiaalin mukana (Wilfert ym. 2016).

Mehiläistarhaajilla on tärkeä rooli tautien torjunnassa, sillä lääkevalmisteiden käyttö mehiläisille on ongelmallista. Suomessa ei ole mehiläisille hyväksyttyjä mikrobilääkevalmisteita, mutta niille voi käyttää toisille tuotantoeläinlajeille hyväksyttyjä lääkevalmisteita (Evira & Helsingin yliopisto 2016). Mehiläisten aineenvaihdunta kuitenkin pilkkoo lääkaineita huonosti ja antibioottijäämien on todettu säilyvän hunajassa kuukausia, jopa yli vuoden (Grady ym. 2016). Tämän takia mikrobilääkkeellä käsitellyn mehiläispesän hunajaa ei saa käyttää elintarvikkeena, ja mehiläistautien hoitoon ei suositella käytettäväksi mikrobilääkkeitä (Evira & Helsingin yliopisto 2016). Tarhauksessa onkin otettava huomioon tautien tartunta- ja leviämistavat. Hyvä tuotantohygienia on tautitorjunnan lisäksi tärkeää myös elintarvikehygieeniseltä kannalta.

Tarhaajien arkeen kuuluu useita eri vuodenaikoina tehtäviä toimenpiteitä, jotka edesauttavat hyvää tuotantohygieniaa ja tautitartuntojen ehkäisemistä. Mehiläistarhalla vuoden aikana tehtävät toimenpiteet on esitetty seuraavalla sivulla olevassa kuvassa (kuva 5). Mehiläisvuoden katsotaan alkavan syksyllä sadonkorjuun jälkeen, kun hunajasta lingotut kehät puhdistetaan ja heikentyneet yhteiskunnat yhdistetään vahvempiin (kirjassa Seppälä & Ruottinen 2003). Tarhatut mehiläiset rakentavat hunajakennoston tavallisesti valmiisiin puisissa kehissä oleviin vahapohjukkeisiin (kirjassa Seppälä & Ruottinen 2003). Linkouksen jälkeen vanhat pohjukkeet on hyvä sulattaa ja kehät puhdistaa, jotta mahdollisia taudinaiheuttajia saadaan vähennettyä pesästä (kirjassa Seppälä & Ruottinen 2003).



Kuva 5. Mehiläistarhauksen vuosikierto. Kuvat: Perttu Kontu, Tuula Kontu

Loppukesällä aloitetaan myös varroapunkin torjunta, ja torjuntatoimia saatetaan tehdä Etelä-Suomessa joulukuulle asti. Varroapunkki on nykyään Suomen mehiläistarhoilla tavallinen vaiva, joka saattaa talven aikana heikentää mehiläispesää huomattavasti, mikäli syksyllä sadonkorjuun jälkeen tehtävä rutiininomainen varroatorjunta jää suorittamatta. Ennen torjuntaa tuottaja saattaa tehdä varroaseulan eli seurata pesän punkkimäärää verkkopohjan avulla arvioidakseen torjunnantarvetta (kirjassa Korpela ym. 2003). Varroan torjuntaan käytetään esimerkiksi fenoleihin kuuluvaa tymolia tai happoja kuten muurahais-, oksaali- tai maitohappoa (Pietropaoli & Formato 2018). Näistä muurahaishappo on ainut, joka tehoaa kaikkiin varroapunkin kehitysvaiheisiin – muista torjunta-aineista poiketen myös peittosikiövaiheessa olevien mehiläistoukkien kennokansien alla piilotteleviin punkkeihin (Pietropaoli & Formato 2018). Varroatorjunta-aineiden käyttö vähentää pesien talvikuolleisuutta, mutta voi heikentää mehiläisen omaa immuunijärjestelmää ja altistaa sen muille taudeille (Boncristiani ym. 2012).

Mehiläispesästä kerätyn hunajan tilalle pesä saa syksyllä talviravinnoksi sokeria. Talven aikana mehiläistarhalla eletään hiljaiseloa, ja tavallisesti tarhaaja tekee ensimmäiset toimenpiteet pesälle vasta kevättalvella puhdistuslennon jälkeen (kirjassa Seppälä & Ruottinen 2003). Mehiläiset huolehtivat yhteiskunnan hygieniasta talven aikana pyrkimällä pitämään pesän puhtaana, ja puhdistuslennon jäljiltä pesän ympäristö on ulosteen tahrina. Keväällä hygieenisiin tuotantotapoihin osana tautien ehkäisyä kuuluvat pesän pohjan puhdistus ja uuden pohjan laittaminen. Vuoden ensimmäiset varroa-kartoitukset ja mahdolliset varroatorjunnat voidaan tehdä toukokuun puolivälissä (kirjassa Seppälä & Ruottinen 2003).

Lähes koko satokauden ajan on tarkkailtava merkkejä mehiläisten mahdollisesta parveilusta (kirjassa Seppälä & Ruottinen 2003). Parveilu on mehiläisille luontainen tapa muodostaa uusia yhteiskuntia. Parveilu voi tarhatussa mehiläisyhteiskunnassa olla seurausta esimerkiksi periytyvästä parveilutaipumuksesta, ahtaista oloista, tuuletuksen puutteesta tai muista olosuhdeongelmista (kirjassa Ruottinen ym. 2003). Parveilua suunnitteleva yhteiskunta kasvattaa vanhaan pesään uuden emon ja vanha emo vie mukanaan osan vanhan pesän työmehiläisistä. Parveilun seurauksena tarhaaja menettää suuren osan kauden sadosta, ja jo parveilua suunnitteleva pesä tuottaa tavallista vähemmän hunajaa (kirjassa Seppälä & Ruottinen 2003). Parveiluun viittaavat mehiläisten vähentynyt lentäminen ja pesän etuseinälle tai lentoaukolle kerääntyminen

sekä parvikennojen rakennus (Seppälä 2012). Parveiluyritys estetään varmimmin jakamalla pesä kahdeksi pesäksi (Seppälä 2012).

## 2.5 Mehiläisen puolustuskeinot

### 2.5.1 Yhteiskuntataso

Tarhamehiläiset elävät yhteiskunnassa mehiläispesässä, joka toimii toukkien kasvupaikkana sekä emon ja muiden mehiläisten asuinpaikkana ja jossa varastoidaan hunajaa ja siitepölyä. Suuri mehiläistiheys ja suljettu asuinympäristö altistavat mehiläisyhteiskunnan taudeille, joita vastaan mehiläisille on kehittynyt useita kemiallisia ja käytöksellisiä puolustuskeinoja.

Mehiläistuotteissa, kuten hunajassa, siitepölyssä ja propoliksessa, on entsyymien aktiivisuutta lisääviä yhdisteitä (Johnson 2008) sekä antimikrobisia ominaisuuksia (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). Antimikrobisuus tarkoittaa mikrobeja tuhoavaa tai niiden kasvua estävää ominaisuutta. Tutkimuksessaan Borba ja Spivak (2017) havaitsivat, että kokeellisesti propoliksella päällystetyissä mehiläispesissä toukkien ruokamehussa havaittiin suurempaa antimikrobista aktiivisuutta kuin verrokkipesissä. Lisäksi tutkijat havaitsivat propoliksella auttavan suojelemaan toukkia bakteeri-infektioilta (Borba & Spivak 2017). Propoliksella on myös esimerkiksi havaittu lieventävän aflatoksiinien aiheuttamia myrkytystiloja mehiläisissä ja vähentävän mehiläisten kuolleisuutta (Niu ym. 2011). Toukkien pääasiallisessa ravinnossa, nuorten työmehiläisten tuottamassa ruokamehussa, on myös todettu olevan antimikrobisia ominaisuuksia (Fratini ym. 2016).

Mehiläisillä on useita käyttäytymismalleja, jotka edistävät yksilön omaa puhtautta ja vähentävät yhteiskunnan kontaminaatiota. Toukkien kasvatus yksittäisissä kennoissa vähentää useiden tautien tartuntariskiä yhteiskunnan sisällä (Evans ym. 2006). Lisäksi Rueppell ym. (2010) todensivat tutkimuksessaan työmehiläisissä aiemminkin havaitun käyttäytymismallin, jossa sairastuneet, vanhat tai muuten vaarantuneet yksilöt poistuivat itsenäisesti pesästä palaamatta takaisin ja siten suojasivat yhteiskunnan muita mehiläisiä tartunnoilta.

Sukiminen on työmehiläisten tärkeä tapa poistaa mekaanisesti vieraita partikkeleita tai esimerkiksi varroapunkkeja itsestään ja toisista mehiläisistä (Bak & Wilde 2015). Mehiläisillä on myös tapana pitää pesän siisteydestä huolta ulostamalla pesän ulkopuolelle (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003) sekä poistamalla roskia ja sairaita tai kuolleita toukkia pesästä (Evans ym. 2006). Pesän ulkopuolelta peräisin olevia vierasesineitä, joita ei kyetä poistamaan, saatetaan eristää propoliksella (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). Yhteiskunnan sisällä työtehtävät jakautuvat pitkälti ikäryhmittäin: hieman vanhemmat työmehiläiset tavallisesti hoitavat kuolleiden mehiläisten ja toukkien poistamisen pesästä, eivätkä välttämättä kommunikoi nuorten ruokkijamehiläisten ja elävien toukkien kanssa (Evans & Spivak 2010). Tämä voi vähentää tautien horisontaalisia tartuntoja yhteiskunnan sisällä.

Mehiläiset muokkaavat pesän olosuhteita yhteiskunnan tarpeiden mukaisiksi – esimerkiksi toukkien kasvatuksessa kennojen lämpötilan on pysyttävä 32–34 celsiusasteessa tasaisessa ilmankosteudessa (Evans & Spivak 2010). Kandemir ym. (2012) havaitsivat, että olosuhteita muokkaamalla mehiläiset puolustavat pesää tunkeutujilta, esimerkiksi ampiAISilta tai vierailta emoilta. Mehiläiset voivat esimerkiksi ympäröidä tunkeutujan ja nostaa muodostelman sisällä lämpötilaa ja ilmankosteutta tunkeutujan tappamiseksi (Kandemir ym. 2012).

## 2.5.2 Yksilötaso

Mehiläisillä on erilaisia mekaanisia, fysiologisia ja immunologisia puolustuskeinoja elimistöön pyrkiviä taudinaiheuttajia vastaan. Ne pystyvät vastustamaan tartuntaa ja eri mekanismeilla taistelevat myös olemassa olevaa infektiota vastaan tai mukautuvat omalla toiminnallaan sietämään sitä (Evans & Spivak 2010). Mehiläisellä on yhtenä olennaisimmista ulkoisista mekaanisista esteistä kehoa ympäröivä kitiinikuori sekä sitä päällystävät epiteelikerrokset (Evans & Spivak 2010). Ruuansulatuskanavassa suolta päällystää proteiinien ja kitiinin muodostama suojakalvo, peritrofinen kalvo, joka neutraloi toksiineja ja taudinaiheuttajia ja estää niitä imeytymästä elimistöön tai tunkeutumasta suolen epiteeliin (Teixeira ym. 2015). Lisäksi suolen normaalibakteeristo kilpailee taudinaiheuttajien kanssa ravinnosta ja elintilasta ja siten suojelee mehiläisen elimistöä (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003).

Mehiläiset hengittävät erillisten ilmanottoaukkojen kautta. Ilmanottoaukot jatkuvat ilmaputkina ja päättyvät takaruumiissa oleviin ilmapusseihin. Ilmaputket ovat rakenteeltaan sellaisia, että ne estävät vieraita eliöitä tunkeutumasta mehiläisen elimistöön (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). Hatjinan ym. (2004) mukaan myös ilmanottoaukkojen rakenne-erot saattavat vaikuttaa siihen, kuinka resistenttejä mehiläiset ovat esimerkiksi sisuspunkille.

Hyönteisillä ei ole selkärangaisille ominaista hankittua immuniteettia, ja mehiläisiltä puuttuvat kokonaan esimerkiksi lymfosyytit ja immunoglobuliinit (Hernández López ym. 2014). Mehiläisillä on kuitenkin kehittynyt immuunipuolustusjärjestelmä. Altistuminen patogeenille käynnistää mehiläisessä immuunireaktion, joka kattaa kolme pääasiallista immuunipuolustuksen reittiä: Toll, Imd-JNK ja JAK/STAT (Evans ym. 2006). Nämä reitit ovat ihmisen komplementtijärjestelmän kaltaisia järjestelmiä, joissa erilaiset proteiinit tunnistavat taudinaiheuttajia ja käynnistävät elimistössä ketjureaktion niiden tuhoamiseksi (Evans ym. 2006). Kun halutaan päästä eroon vahingoittuneista tai ei-halutuista soluista esimerkiksi taudinaiheuttajan tunkeutuessa suolen epiteelisoluihin, mehiläisen elimistö voi käynnistää apoptoosin eli ohjelmoidun solukuoleman (Martín-Hernández ym. 2017).

Mehiläisten hemolymfassa eli veri-imunesteessä on muiden selkärangattomien tapaan hemosyyttejä eli hemolymfan syöjäsoluja, jotka siivoavat elimistöstä taudinaiheuttajia (Evans & Spivak 2010). Hemolymfassa on myös antimikrobisia peptidejä (Daníhlík ym. 2015). Antimikrobiset peptidit ovat tärkeä osa mehiläisen humoraalista immuniteettia ja toimivat tunkeutumalla mikrobin solukalvoon ja estämällä bakteerien lisääntymistä (Daníhlík ym. 2015). Aineenvaihdunnassa syntyneet typpipitoiset kuona-aineet sekä myrkylliset yhdisteet kuljetetaan Malpighin putkissa suolistoon ja sitä kautta ulosteisiin (Nocelli ym. 2016). Malpighin putket ovat mehiläisen erityselimistö, joka muistuttaa toiminnaltaan munuaisia (Nocelli ym. 2016).



### 3 BAKTEERITAUDIT

#### 3.1 Esikotelomätä (*Paenibacillus larvae*)

##### 3.1.1 Yleistä

Esikotelomätä on grampositiivisen *Paenibacillus larvae* -bakteerin aiheuttama tarha-mehiläisten tappava tauti, joka tarttuu mehiläisten toukkiin herkästi itiöiden välityksellä ravinnon mukana (Genersch ym. 2006). Tauti voi aiheuttaa pesässä huomattavia klinisiä oireita ja voi lopulta johtaa koko pesän kuolemaan (katsauksessa Seppälä 2013).

**Levinneisyys:** Esikotelomätä on levinnyt maailmanlaajuisesti ja on yksi tärkeimmistä mehiläisyhteiskuntien kuolemia aiheuttavista mehiläistaudeista (Genersch ym. 2006). Myös Suomessa esikotelomätää esiintyy yleisesti: vuosina 2006–2016 Elintarviketurvallisuusvirasto Eviraan lähetetyistä mehiläistautien tutkimusnäytteistä 10–30 % on ollut positiivisia (Ruokavirasto 2019a). Vuoden 2017 aikana Evirassa tutkittiin esikotelomädän varalta 1 278 hunajanäytettä 143 tarhaajalta, ja näistä *P. larvae* -positiivisia näytteitä oli kahdeksan prosenttia. Vuonna 2017 klinistä esikotelomätää ei todettu yhdelläkään tarhalla (Evira 2018).

**Oireet:** Esikotelomätä on toukkavaiheen tauti (Genersch ym. 2006). Toukka kuolee tautiin tavallisesti 7–12 päivän ikäisenä riippuen bakteerin genotyypistä (Genersch ym. 2006). Kliiniset oireet voivat joskus olla vaikeasti havaittavissa, mutta selvimpiä oireita ovat sikiöalan aukkoisuus ja reikäiset kennokannet, joiden alla kuolleet toukat ovat hajonneet ruskeiksi, venyväisiksi massoiksi (katsauksessa Seppälä 2013). Toukan jäännökset kuivuvat edelleen kuivaksi, kovaksi materiaaliksi, joka kiinnittyy kennojen seinämiin (Genersch ym. 2006). *P. larvae* -bakteeria voi esiintyä mehiläispesässä myös piilevänä tartuntana (katsauksessa Seppälä 2013). Tällöin hunajassa saattaa olla pieniä määriä itiöitä, mutta tautia ei usein muuten pesässä havaita. Yleensä piilevät tartunnat johtavat hoitamattomina klinisen taudin puhkeamiseen (katsauksessa Seppälä 2013).

**Selviäminen ympäristössä:** Kuolleessa toukassa voi olla miljardeja bakteeri-itiöitä, jotka säilyvät hunajassa ja pesätarvikkeissa infektiokykyisinä todistetusti ainakin 35 vuotta (Alonso-Salces ym. 2017). Itiöt ovat myös hyvin vastustuskykyisiä ääriämpötiloille ja yleisille desinfektioaineille (Alonso-Salces ym. 2017).

**Tartunnat muihin eläinlajeihin:** *P. larvae* -bakteerin aiheuttama bakteremia on vuonna 2010 raportoitu viidellä ihmisellä (Rieg ym. 2010). Tartunnat tapahtuivat *P. larvae* -itiöitä sisältäneiden injektiohuumeneulojen välityksellä. Useiden muidenkin *Paenibacillus*-lajien on todettu aiheuttavan bakteremioita ihmisissä (Rieg ym. 2010). *P. larvae* -tartuntoja ei ole raportoitu muilla eläinlajeilla.

**Hoito:** Voimakkaassa tartunnassa hoito ei ole kannattavaa, vaan pesät kannattaa tuhota esimerkiksi polttamalla (MMMä 2034/14/2014, 11 §). Lievemmissä tapauksissa ainut tehokas keino esikotelomädän hävittämiseen pesästä on saneeraus eli aikuisten mehiläisten siirtäminen puhtaaseen pesään sekä sikiöiden, ruokavarojen ja sikiökakustojen hävittäminen bakteeri-itiöiden tuhoamiseksi (MMMä 2034/14/2014, 11 §).

**Tautiluokitus:** Esikotelomätä kuuluu koko Suomessa vastustettaviin, valvottaviin eläintauteihin (MMMä 843/2013, 5 §). Mikäli tauti todetaan pitopaikassa, infektoituneille pesille asetetaan rajoittavat määräykset: pesän, sikiökakustojen, mehiläisten ja pesään kosketuksissa olleiden aineiden ja esineiden siirtäminen pitopaikan ulkopuolelle kielletään, kunnes riittävät saneeraustoimenpiteet on suoritettu ja pesä todettu infektiovapaaksi (MMMä 2034/14/2014, 8 §). Lisäksi pesästä saadun hunajan, vahan ja siitepölyn siirtäminen toiseen mehiläisten pitopaikkaan on kiellettyä (MMMä 2034/14/2014, 8 §).

### 3.1.2 Tartunta ja patogeneesi

Mehiläisyhteiskunnan sisällä tauti leviää niistä infektiin kuolleista toukista, joita nuoret työmehiläiset eivät poista kennoista tarpeeksi nopeasti (Rauch ym. 2009). Itiöt leviävät esimerkiksi ruokkijamehiläisten välityksellä ja tartuttavat vain alle 36 tunnin ikäisiä toukkia (katsauksessa Müller ym. 2015). Jo muutama itiö riittää infektoimaan toukan (Djukic ym. 2014). Patogeneesin non-invasiivinen vaihe alkaa, kun itiö kulkeutuu ravinnon mukana suoleen. Mehiläistoukan suolistossa itiö germinoituu eli muuttuu kasvavaksi bakteerisoluksi ja lisääntyy suolistossa toukan ravinnon avulla (Djukic ym. 2014). Bakteeri kilpailee tämän vaiheen aikana elintilastaan suoliston omien mikrobien kanssa, ja se tuottaa muun muassa erilaisia antimikrobisia aineita, jotka tappavat kilpailevia sieniä ja bakteereita (katsauksessa Müller ym. 2015).

Kun bakteeri vaurioittaa suolen seinämän peritrofista kalvoa ja tunkeutuu epiteelin läpi ruumiinonteloon, siirtyään patogeneesin invasiiviseen vaiheeseen (Djukic ym. 2014).

Tämä vaihe johtaa toukan kuolemaan (Djukic ym. 2014). Epiteelin hajotus tapahtuu solu–solu- ja solu–matriksi-liitosten hajottamisella, jolloin bakteeri pääsee ruumiinonteloon solujen väleistä (Djukic ym. 2014). Toukan kuoleman jälkeen *P. larvae* -bakteeri hajottaa toukan ruumiin ja aloittaa itiöiden muodostuksen (katsauksessa Müller ym. 2015).

### 3.1.3 Taudinaiheuttamiskyky

Genersch ym. (2006) erottivat *P. larvae* -bakteerille rep-PCR-menetelmällä (engl. *repetitive element PCR*) neljä erilaista genotyyppiä, ERIC I – ERIC IV, joista ERIC I- ja ERIC II -genotyyppeihin kuuluvia bakteereja eristetään säännöllisesti esikotelomädän infektoimista mehiläispesistä. Tutkimuksessa havaittiin ERIC II -genotyypin olevan toukkatasolla ERIC I -genotyyppiä virulentimpi, sillä mehiläistoukka kuolee siihen noin seitsemässä päivässä, kun taas ERIC I -genotyypiltä kuluu tähän keskimäärin 12 päivää. Rauch ym. (2009) päättelivät, että mitä nopeammin *P. larvae* -bakteeri tappaa infektoituneen toukan, sitä nopeammin toukka poistetaan pesästä ja sitä vähemmän virulentti se on yhteiskuntatasolla. *P. larvae* -bakteerin yksilö- ja yhteiskuntatason virulenssien välillä siis vallitsee negatiivinen korrelaatio, eli yksilötasolla virulentimpi ERIC II -genotyyppi ei infektoi yhteiskuntaa yhtä voimakkaasti kuin ERIC I -genotyyppi.

*P. larvae* -bakteerilla tiedetään olevan useita virulenssitekijöitä, joita bakteeri käyttää tunkeutuakseen toukan kudoksiin. Bakteeri käyttää genotyypistä riippuen patogeneesissään muun muassa erilaisia toksineja, pintakerrosproteiinia ja proteaaseja (Poppinga ym. 2012). Esimerkiksi ERIC I -kannan genomista on löydetty AB-toksiineja muistuttavia toksineja koodaavia lokuksia eli geenin sijaintipaikkoja (Djukic ym. 2014). Yksi näistä toksineista on Plx2A, jonka Ebeling ym. (2017) havaitsivat olevan sytotoksinen eli soluja tuhoava sekä voivan aiheuttaa sytokineesin inhibitiota eli rajoittamista. Sytokineesillä tarkoitetaan sitä solunjakautumisen vaihetta, jossa tytärsolut kuroutuvat erilleen toisistaan. Sytokineesin inhibitio viittaa siihen, että toksini pystyy pääsemään sisään soluihin ja on bakteerin tärkeä virulenssitekijä (Ebeling ym. 2017). ERIC II -genotyypillä puolestaan on tärkeä pintakerrosproteiini SplA, joka välittää bakteerin kiinnittymistä suolen soluihin ja vaikuttaa olennaisesti bakteerin tappokykyyneen (Poppinga ym. 2012).

ERIC I- ja ERIC II -genotyypeilla on useita proteaaseja (Djukic ym. 2014). Proteaaseista, kuten kollageenaaseista tai kitinaaseista, voi olla hyötyä patogeneesin invasiivisessa

vaiheessa: muun muassa antimikrobisten peptidien tuhoamisessa, epiteelisoluliitosten rikkomisessa, tyvikalvon hajottamisessa ja kuolleen toukan jäännösten tuhoamisessa (Djukic ym. 2014). Jäännösten hajoamisen seurauksena bakteerit vapautuvat toukasta ja aloittavat itiöinnin (Djukic ym. 2014).

Genomisekvensoinnissa *P. larvae* -bakteerilla havaittiin olevan potentiaalia tuottaa myös erilaisia sekundaarisia metaboliitteja (Djukic ym. 2014). Sekundaariset metaboliitit ovat taudinaiheuttajien toissijaisia aineenvaihduntatuotteita, jotka eivät ole välttämättömiä niiden selviämisen kannalta. Sekundaarisista metaboliiteista voi kuitenkin olla hyötyä taudinaiheuttajalle esimerkiksi patogeenisissä. *P. larvae* -bakteerin mahdollisilla sekundaarisilla metaboliiteilla voi olla esimerkiksi antimikrobisia ominaisuuksia, jotka voivat auttaa bakteeria kilpailussa elintilasta muiden mikrobien kanssa (Garcia-Gonzalez ym. 2014). Sekundaaristen metaboliittien osallisuudesta *P. larvae* -bakteerin patogeenisissä tiedetään kuitenkin toistaiseksi vain hyvin vähän.

#### 3.1.4 Diagnoosi

Esikotelomätädiagnoosi voidaan tehdä alustavasti kliinisten oireiden perusteella, mutta varmistettu tulos saadaan vain laboratoriotestein. Tauti voidaan diagnosoida bakteeriviljelyllä hunajasta, mehiläisvahasta, siitepölystä, toukista, sikiökakusta, pesän talvenajan pohjaroskista tai aikuisista työmehiläisistä (katsauksessa de Graaf ym. 2013). Adjlanen ym. (2014) tutkimuksen mukaan oireettoman taudin diagnosointi hunajasta tai työmehiläisistä saattaa olla tehokkaampaa kuin vahan, siitepölyn tai pohjaroskien tutkiminen. Suomessa Ruokavirasto ohjeistaa lähettämään tutkimukseen palan sikiökakkua, jossa havaitaan tautiin viittaavia muutoksia (Ruokavirasto 2019a). Ruokavirasto tutkii piileviä tartuntoja hunajasta tai sikiökakun aikuisista mehiläisistä (Ruokavirasto 2019a). Viljelytulos on yleensä riittävä taudin diagnosoimiseksi, mutta tarkempi tunnistus ja genotyyppitys voidaan tehdä PCR-menetelmällä (katsauksessa de Graaf ym. 2013).

### 3.2 Toukkamätä (*Melissococcus plutonius*)

#### 3.2.1 Yleistä

Toukkamätä on grampositiivisen *Melissococcus plutonius* -bakteerin aiheuttama tarhamehiläisten tarttuva tauti, joka esikotelomädän tapaan aiheuttaa kliinistä tautia toukkavaiheessa (katsauksessa Forsgren 2010). Esikotelomädästä poiketen tauti kuitenkin tarttuu bakteerisolujen, ei itiöiden, välityksellä (katsauksessa Forsgren 2010), ja toukkamätä ei Suomessa tavallisesti aiheuta mehiläisyhteiskunnassa yhtä huomattavia kliinisiä oireita (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). Monissa oireettomissa pesissä voi kuitenkin olla bakteeria kantavia aikuisia mehiläisiä, jotka siirtävät bakteeria muihin alueen pesiin (katsauksessa Forsgren 2010).

Katsauksessaan Forsgren (2010) listaa *M. plutonius* -bakteerin lisäksi useita toissijaisia taudinaiheuttajia, joita usein eristetään toukkamädästä kärsivistä mehiläisyhteiskunnista. Nämä taudinaiheuttajat voivatkin olla osallisia taudin kliinisten oireiden aiheuttamisessa, joskaan eivät yksinään aiheuta tautia. Tällaisia sekundaarisia taudinaiheuttajia ovat esimerkiksi *Achromobacter euidice*-, *Enterococcus faecalis*- ja *Paenibacillus alvei* -bakteerit (katsauksessa Forsgren 2010). Kliinisen taudin esiintyminen mehiläisyhteiskunnissa voi liittyä myös muihin tekijöihin, esimerkiksi vaihteleviin sääolosuhteisiin, ravinnonsaantiin tai mehiläisen tai taudinaiheuttajan geneettisiin eroihin (katsauksessa Forsgren 2010).

**Levinneisyys:** Toukkamätää tavataan lähes maailmanlaajuisesti (katsauksessa Forsgren 2010). Suomessa toukkamätää todetaan tavallisesti muutamalla tarhalla vuodessa (Ruokavirasto 2019c). Esimerkiksi vuonna 2017 Evira totesi *M. plutonius* -bakteeritartunnan kahdella tarhalla (Evira 2018).

**Oireet:** Toukkamätä tappaa toukan tavallisesti avosikiövaiheessa neljän tai viiden päivän ikäisenä (katsauksessa Forsgren 2010). Yksi toukkamädän tunnusmerkeistä on kuolleen toukan pahan hajun lisäksi sen poikkeava asento kennossa – tavallisesti toukat ovat kennoissaan kerällä, mutta toukkamädästä kärsivä toukka saattaa esimerkiksi nousta kennon seinää pitkin tai asettautua kennossaan pitkittäin (katsauksessa Forsgren 2010). Lisäksi toukissa tapahtuu tavallisesti värinmuutos vaaleasta harmaanmustaan (Lewkowski & Erler 2018). Toisinaan toukkamätä ja esikotelomätä voivat olla oireiltaan hyvin samanlaisia; myös peittosikiövaiheessa olevat toukat voivat kärsiä toukkamädästä,

jolloin kennostossa saatetaan havaita upoksissa olevia kennokansia kuten esikotelomädässä (katsauksessa Forsgren 2010). Toukka ei kuitenkaan aina kuole toukkamätäinfektioon (McKee ym. 2004). Tutkimuksessaan McKee ym. (2004) havaitsivat toukkamätäinfektion kuitenkin johtavan toukan peittosikiövaiheen myöhästymiseen: infektio voi lisätä toukkien ravinnontarvetta ja siten hidastaa peittosikiövaiheen saavuttamista, mikä heikentää koko yhteiskuntaa.

**Selviäminen ympäristössä:** *M. plutonius* voi säilyä tartuntakykyisenä pitkiä aikoja kuivassakin ympäristössä esimerkiksi pesän rakenteissa, mutta kykenee lisääntymään ainoastaan mehiläistoukan suolistossa (katsauksessa Forsgren 2010).

**Tartunnat muihin eläinlajeihin:** Tartuntoja ei ole raportoitu muilla eläinlajeilla.

**Hoito:** Voimakkaassa tartunnassa yhteiskunta kannattaa esikotelomädän tapaan tuhota esimerkiksi polttamalla (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). Lievemässä tartunnassa kuolleita toukkia sisältävät kakut on hyvä tuhota, ja torjunnassa keskitytään pesän vastustuskyvyn ylläpitämiseen (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003).

**Tautiluokitus:** Toukkamätä kuuluu koko Suomen alueella kuukausittain aluehallinto-  
virastolle ilmoitettaviin eläintauteihin (MMMa 1010/2013, 8 §).

### 3.2.2 Tartunta ja patogeneesi

Leviäminen mehiläisyhteiskunnan sisällä näyttää tapahtuvan pääasiassa infektiosta selvinneiden toukkien ulosteiden sekä aikuisten, bakteeria kantavien mehiläisten välityksellä (katsauksessa Forsgren 2010). Toukkamädän patogeneesi on pitkälti samanlainen kuin esikotelomädän patogeneesi. Ensimmäinen, non-invasiivinen vaihe on toukan kannalta oireeton (katsauksessa Forsgren 2010). Bakterisolut kulkeutuvat ravinnon mukana toukan suolistoon, jonne bakteeri kolonisoituu ja alkaa lisääntyä nopeasti (katsauksessa Forsgren 2010). Tutkimuksessaan McKee ym. (2004) aiheuttivat kuolemaan johtaneen infektion toukissa syöttämällä niille *M. plutonius* -bakteerisoluja sisältävää ravintoliuosta, jonka konsentraatio oli 200 bakteerisolua millilitrassa. Niellyn bakteerimäärän ja kuolleisuuden välillä havaittiin positiivinen yhteys (McKee ym. 2004). Tarkka infektiivinen annos ei tutkimuksessa selvinnyt, mutta aiemmassa tutkimuksessa infektiivisen annoksen on todettu olevan alle 100 bakteerisolua (Bailey 1960).

Toisessa, invasiivisessa vaiheessa toukkamätä aiheuttaa toukan suolen kudosisvaurion, jolloin alkaa taudin oireellinen muoto (katsauksessa Forsgren 2010). Invasiivinen vaihe on toistaiseksi melko huonosti tunnettu, mutta tutkimuksessaan McKee ym. (2004) havaitsivat, että vaikka infektoituneille toukille tarjottiin ylimäärin ravintoa, niitä kuoli toukkamätään. Toukkien kuolema ei siis välttämättä johdu pelkästään ruuansulatuskanavan tulehduksesta ja ravintoaineista kilpailemisesta, vaan bakteerilla on mitä ilmeisimmin erilaisia patogeenisiä mekanismeja, joita ei vielä tunneta.

### 3.2.3 Taudinaiheuttamiskyky

*M. plutonius* -bakteerin leviämisen tehokkuus yhteiskunnan sisällä riippuu siitä, kuinka virulentti bakteeri on – bakteerin virulenttimmat muodot tappavat toukan todennäköisemmin ennen peittosikiövaihetta. Tällöin työmehiläiset siivoavat pois toukan jäänteet ja samalla taudinaiheuttajan (katsauksessa Forsgren 2010). Jos taas toukka ei kuole vaan kehittyy aikuiseksi mehiläiseksi, se koteloituessaan tyhjentää suolensa sisällön kennoon. Tällöin suolensisällössä olevat infektiiviset bakteerisolut voivat infektoida muita yhteiskunnan toukkia (katsauksessa Forsgren 2010).

*M. plutonius* -bakteeri on tyypitetty MLST-sekvenssityypityksen (engl. *multilocus sequence typing*) avulla 30 eri sekvenssityypiin (Lewkowski & Erler 2018). Nämä sekvenssityypit jaetaan genotyypin mukaan kolmeen ryhmään, niin sanottuihin klonaalisiin komplekseihin. Kunkin klonaalisen kompleksin virulenssi näyttää eroavan toisistaan: CC13-ryhmä on vähiten virulentti, *in vitro* -tutkimuksissa mahdollisesti jopa avirulentti, kun taas CC3 ja erityisesti CC12 ovat selvästi virulentimpia (Nakamura ym. 2016).

Djukic ym. (2018) sekvensoivat ja analysoivat useiden *M. plutonius* -kantojen genomit selvittääkseen tarkemmin bakteerin mahdollisia virulenssitekijöitä. Kaikilla bakteerikannoilla havaittiin olevan potentiaalia tuottaa pintakerrosproteiineja sekä erilaisia toukan suolen peritrofista kalvoa hajottavia entsyymejä kuten kollageenaasia ja enhansiinia. Mahdolliset virulenssitekijät erosivat eri klonaalisia komplekseja edustavilla kannoilla, mikä voi osaltaan selittää kantojen virulenssieroja (Djukic ym. 2018). *M. plutonius* -bakteerin virulenssitekijöiden tuntemus on kuitenkin vielä alkutekijöissään ja vaatii jatkotutkimuksia, jotta virulenssiin vaikuttavat todelliset tekijät saadaan selville.

### 3.2.4 Diagnoosi

Yksittäisen pesän toukkamätädiagnoosi voidaan tehdä alustavasti näkyvien oireiden perusteella, mutta toisaalta toukkamätä voidaan oireiden perusteella helposti sekoittaa esimerkiksi esikotelomätään (katsauksessa Forsgren 2010). Forsgrenin ym. (2005) mukaan kliininen tauti diagnosoidaan luotettavimmin toukista, joilla on selviä toukkamädän oireita. Ruokavirasto ohjeistaa lähettämään toukkamädän varalta tehtävää PCR-tutkimusta varten palan sikiökakkua kohdasta, jossa havaitaan tyypillisiä sikiömuutoksia (Ruokavirasto 2019a). Piilevä tartunta taas voidaan Ruokaviraston mukaan saada kiinni hunajanäytteestä, vaikka Forsgren ym. (2005) havaitsivat tutkimuksessaan, että kliinistäkin tautia ei aina saada diagnosoitua hunajanäytteestä – vain 38 prosentissa toukkamätäinfektioista saatiin positiivinen PCR-tulos hunajasta. *M. plutonius* on vaikea viljeltävä ja tuottaa kasvua vain harvassa näytteessä, minkä takia PCR on selvästi bakteeriviljelyä luotettavampi diagnosointimenetelmä (katsauksessa Forsgren 2010).

## 4 SIENITAUDIT

### 4.1 Nosematoosi (*Nosema apis* ja *Nosema ceranae*)

#### 4.1.1 Yleistä

*Nosema apis* ja *Nosema ceranae* ovat *Microsporidia*-kaareen kuuluvia itiöitä muodostavia, yksisoluisia ja solunsisäisiä loissieniä (Higes ym. 2008). Nosematoosi eli nosemoosi aiheuttaa mehiläisyhteiskunnissa ongelmia etenkin loppupalvesta ja alkukeväästä (Higes ym. 2008). Tauti infektoi itiöiden välityksellä aikuisen tarhamehiläisen suolen limakalvon epiteelisolut (Forsgren & Fries 2010). Infektion seurauksena suolessa tuotetaan miljoonia itiöitä, jotka vapautuvat ympäristöön ulosteessa (Goblirsch ym. 2013).

**Levinneisyys:** Suomessa noin kolmasosassa pesistä esiintyy *Nosema*-itiöitä (Heinikainen, henkilökohtainen tiedontanto). Nosematoosia tavataan kaikkialla maailmassa (Huang ym. 2015). Perinteisesti nosematoosia on Suomessa aiheuttanut *N. apis* -laji (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). *N. ceranae* -lajin uskottiin aiemmin olevan



yksinomaan intianmehiläisen vaiva, mutta sen on todettu infektoivan myös tarhamehiläistä (Forsgren & Fries 2010). Eviran Eläintaudit Suomessa 2017 -julkaisun mukaan sekä *N. apis* että *N. ceranae* ovat Suomessa yleisiä, mutta kumpikaan harvoin aiheuttaa mehiläisyhteiskunnassa kliinistä tautia. Vuoden 2017 aikana Evirassa tutkittiin nosematoosin varalta 13 näytettä, joista kahdeksassa todettiin noseemaitiöitä (Evira 2018).

**Oireet:** Nosematoositartunta voi olla oireeton tai vähäoireinen (Botías ym. 2013). Vähäoireisessa pesässä toukkien tuotannon, aikuisten mehiläisten määrän ja hunajan-tuotannon alentuminen jäävät tarhaajalta helposti huomaamatta (Botías ym. 2013). Kliininen nosematoosi lyhentää mehiläisen elinikää (Goblirsch ym. 2013). Voimakkaasti infektoituneissa yhteiskunnissa toukkia kasvatetaan vähemmän, minkä seurauksena myös aikuisten mehiläisten määrä vähenee (Botías ym. 2013). Infektion seurauksena myös mehiläisten lentokyky saattaa heikentyä (Botías ym. 2013). Akuutista *N. apis* -kannan aiheuttamasta nosematoosista kärsivän yhteiskunnan voi tunnistaa etenkin aikaisin keväällä ulosteen tahrimista kennostoista ja pesän edustasta (Bailey 1967).

**Selviäminen ympäristössä:** *N. ceranae* -itiöiden on tutkimuksissa havaittu sietävän *N. apis* -itiöitä korkeampia lämpötiloja (Fenoy 2009). Tutkimuksessaan Fenoy ym. (2009) havaitsivat *N. ceranae* -itiöiden sietävän hyvin 60 celsiusasteen lämpötilaa, kun *N. apis* -itiöt kuolevat 60 celsiusasteessa jo 15 minuutissa. Tämä voi mahdollistaa *N. ceranae* -itiöiden säilymisen esimerkiksi kehitä sulatettavassa vahassa, joka käsitellään usein noin 60 celsiusasteen lämpötilassa ja voidaan käyttää uudelleen vahapohjukkeiden tekoon (Fenoy 2009). *N. ceranae* -itiöt säilyvät hyvin myös kuivissa oloissa mutta tuhoutuvat herkästi jäädytettäessä (Fenoy 2009). Sekä *N. apis* - että *N. ceranae* -itiöt kestävät huonosti jäähdyttämistä neljään celsiusasteeseen (Fenoy 2009).

**Tartunnat muihin eläinlajeihin:** *N. ceranae* voi tarttua useisiin eri kimalaislajeihin ja tartuntoja onkin raportoitu eri puolilla maailmaa tehdyissä tutkimuksissa (Plischuk ym. 2009, Li ym. 2012, Graystock ym. 2013). Tutkimuksessaan Graystock ym. (2013) havaitsivat nosematoosin olevan kimalaisille hyvin tappava: laboratoriotutkimuksessa 48 % *N. ceranae* -bakteerille altistetuista kimalaisista kuoli seitsemän päivän sisällä tartunnasta. *N. apis* -tartuntoja ei ole raportoitu muilla eläinlajeilla.

**Hoito:** Nosematoosin torjunta painottuu mehiläissyhteiskunnan vastustuskyvyn ylläpitämiseen ja kakuston säännölliseen uusimiseen (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003).

Nosematoosin sietokyky mehiläisessä voi olla myös perinnöllistä, jolloin jalostuksella voi olla merkitystä nosematoosin torjunnassa (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003).

**Tautiluokitus:** Nosematoosi kuuluu koko Suomen alueella kuukausittain aluehallinto-virastolle ilmoitettaviin eläintauteihin (MMM 1010/2013, 8 §).

#### 4.1.2 Tartunta ja patogeneesi

Tartuntareitit lienevät samanlaisia sekä *N. apis*- että *N. ceranae* -sienellä (Huang ym. 2015). Kaikki infektoituneen mehiläisen suolen sisällöllä kontaminoitunut aines voi toimia tartuntalähteenä (Goblirsch ym. 2013). *Microsporidia*-kaareen kuuluvilla sienillä, eli myös *Nosema*-suvun jäsenillä, on ainutlaatuinen tunkeutumismekanismi isäntäeliön soluun (Yang ym. 2017). Itiötä ympäröi paksu, kaksikerroksinen kuori, joka suojaa itiötä ympäristöltä ja on osallisena isäntäeliön soluihin kiinnittymisessä. Lepotilaisen itiön etuosassa kuoren sisäpuolella on lankamainen polaarin säie (engl. *polar tube*) (Yang ym. 2017). Isäntäeliön suolen otollisissa olosuhteissa itiö germinoituu, jolloin polaarin säie purkautuu itiön seinämästä ja sporoplasma injektoidaan isäntäsolun sisään (Yang ym. 2017). Sporoplasmalla tarkoitetaan *Microsporidia*-sienten tartuttavaa itiömuotoa.

*Nosema*-infektion kehittyminen vie 10–12 päivää (Forsgren & Fries 2010). Taudin edetessä voimakkaasti infektoituneet limakalvon solut tuhoutuvat, mikä johtaa aliravitsemukseen ja lyhentyneeseen elinikään (Martín-Hernández ym. 2011). Lisääntynyt ravinnonkulutus voi johtaa pesään ulostamiseen, mikä lisää huomattavasti tartuntariskiä yhteiskunnan sisällä (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003).

Kun *Nosema*-sientä esiintyy pesässä, yhdessä mehiläisessä on tyypillisesti 10 000 – 100 000 itiötä (Heinikainen, henkilökohtainen tiedonanto). Kliinisten oireiden aiheuttamiseen arvioidaan tarvittavan mehiläisessä kymmeniä miljoonia itiöitä (Heinikainen, henkilökohtainen tiedonanto). Huangin ym. (2015) tutkimuksessa ID<sub>50</sub>, oli *N. apis* -lajilla keskimäärin 359, *N. ceranae* -lajilla keskimäärin 3217 kappaletta. ID<sub>50</sub> tarkoittaa infektion aiheuttamiseen vaadittavaa itiömäärää 50 prosentilla tutkituista mehiläisistä.

#### 4.1.3 Taudinaiheuttamiskyky

*N. ceranae*- ja *N. apis* -lajien virulenssieroista on tehty useita tutkimuksia, ja tulokset ovat monesti ristiriidassa keskenään. Joidenkin tutkimusten mukaan *N. ceranae* on tietyillä

alueilla, esimerkiksi Yhdysvalloissa (Huang ym. 2015), syrjäyttämässä *N. apis* -lajin, mikä voisi viitata *N. ceranae* -lajin korkeampaan taudinaiheuttamiskykyyn (Forsgren & Fries 2010). Espanjassa *N. ceranae* on joissakin tutkimuksissa yhdistetty useiden mehiläisyhteiskuntien tuhoutumiseen (Martín-Hernández ym. 2007, Higes ym. 2008). Toisaalta muualla maailmassa tätä ilmiötä ei ole pystytty todentamaan, ja esimerkiksi Natsopoulou ym. (2016) ja Huang ym. (2015) tulivat siihen tulokseen, että *N. ceranae* -lajin aiheuttama mehiläisten kuolleisuus on yhtä suuri kuin *N. apis* -lajilla.

Vitellogeniiniproteiinin ja juveniilihormonin välinen vuorovaikutus tahdistaa työmehiläisen siirtymistä ruokkijamehiläisestä kenttämehiläiseksi. Nuorilla ruokkijamehiläisillä vitellogeniinin määrä on juveniilihormonia suurempi, kun taas kenttämehiläisillä tasapaino kallistuu juveniilihormonin suuntaan. *N. ceranae* -infektion on osoitettu nuorilla ruokkijamehiläisillä muuttavan tätä tasapainoa lisäämällä mehiläisissä juveniilihormoniaktiivisuutta (Goblirsch ym. 2013). Siirtyminen ruokkijasta kenttämehiläiseksi nopeutuu, mikä vaikuttaa mehiläisen elinikään. Siirryttyään kenttämehiläisiksi mehiläiset elävät tavallisesti 2–3 viikon ajan (Goblirsch ym. 2013). Tutkimuksessaan Goblirsch ym. (2013) todensivat *N. ceranae* -infektoitujen kenttämehiläisten elävän keskimäärin yhdeksän päivää vähemmän kuin infektoimattomat kontrollimehiläiset. Lyhentynyt elinikä vähentää pesän aikuisten työmehiläisten määrää ja siten vähentää hunajantuotantoa, mikä edelleen voi lisätä nuorten mehiläisten painetta siirtyä nopeammin kenttämehiläisiksi (Botías ym. 2013).

Tutkimuksessaan Martín-Hernández ym. (2017) havaitsivat, että terveiden mehiläisten suolen pintaepiteelikudoksessa tapahtuu huomattavasti enemmän apoptooseja kuin *Nosema*-lajeilla infektoitujen mehiläisten kudoksissa. Tämä pidentää *Nosema*-infektoitujen solujen elinikää ja siten helpottaa nosematoosin leviämistä mehiläisessä. Lisäksi *Nosema* kuluttaa isäntäsolun ATP-varastoja, mikä aiheuttaa mehiläisen aineenvaihdunnalle voimakasta kuormitusta. *N. ceranae* -lajin havaittiin aiheuttavan myös suolen infektoitujen epiteelisolujen koon suurentumista, ja niiden solulimassa havaittiin tavallista enemmän mitokondrioita ja vapaita ribosomeja. Nämä tekijät johtavat suolessa kilpailuun ravintoaineista mehiläisen ja *Noseman* välillä. *Nosema*-infektion ja erityisesti *N. ceranae* -lajin on eri tutkimuksissa todettu lisäävän mehiläisten ravinnontarvetta, mikä lisää niiden glukoosipitoisen ravinnon kulutusta (Martín-Hernández ym. 2011).

#### 4.1.4 Diagnoosi

Nosematoosi diagnosoidaan arvioimalla mikroskoopin avulla mehiläisten ruuansulatuskanavasta yksilöiden keskimääräinen itiöiden määrä (Goblirsch ym. 2013). Riittävänä näytemääränä pidetään 50–100 mehiläistä (Goblirsch ym. 2013). Ruokavirasto ohjeistaa keräämään näytteeksi noin 100 kappaletta kuolleita tai sairaita mehiläisiä pesästä tai sen ympäristöstä (Ruokavirasto 2019a). Tutkimuksessaan Goblirsch ym. (2013) päättelivät, että yhteiskunnan infektoidujen mehiläisten määrän arvioiminen voisi kuitenkin olla tarkoituksenmukaisempaa taudin vakavuuden selvittämiseksi. Yhteiskunta voi selvittää, jos tartunta rajoittuu vain pieneen osaan mehiläisistä, kun taas suuren osan infektoiduessa ennuste taudin saneeraukselle voi olla huono (Goblirsch ym. 2013).

### 4.2 Kalkkisikiötauti (*Ascosphaera apis*)

#### 4.2.1 Yleistä

Kalkkisikiötauti on *Ascosphaera apis* -sienen aiheuttama mehiläisen toukkavaiheen tauti, joka aiheuttaa pesissä ongelmia tavallisesti keväällä (Aronstein & Murray 2010). Tavallisesti tauti ei johda mehiläisyhteiskunnan tuhoon, mutta on tappava yksittäisille toukille. Kalkkisikiötauti tarttuu itiöiden välityksellä suolensisällön kautta (Aronstein & Murray 2010).

**Levinneisyys:** Kalkkisikiötautia tavataan kaikkialla maailmassa (Aronstein & Murray 2010). Tautia esiintyy jonkin verran myös Suomessa (Evira 2013).

**Oireet:** Tartunnan saaneiden toukkien ravinnonkulutus vähenee ja lopulta ne lopettavat syömisen kokonaan (Aronstein & Murray 2010). Tauti on saanut nimensä kuolleiden toukkien kuivuneista, valkean tai mustan rihmaston peittämistä ruumiista (Flores ym. 2005). Valkoinen väri on ominaista hiljattain kuolleiden mehiläisten ruumiille, kun taas pidempään kuolleen olleisiin jäännöksiin on ehtinyt kehittyä itiöitä, jotka tummentavat jäännösten väriä (Aronstein & Murray 2010).

**Selviäminen ympäristössä:** Kalkkisikiöinfektio on usein krooninen ja voi pysyä pesässä vuosia vähentäen toukkien ja hunajan tuotantoa (Vojvodic ym. 2011). Viileä ja kostea sää edesauttaa sienen kasvua (Aronstein & Murray 2010). Itiöt voivat säilyä pesän rakenteissa tartuntakykyisinä jopa 15 vuoden ajan (Aronstein & Murray 2010).

**Tartunnat muihin eläinlajeihin:** *A. apis* voi tarttua kimalaisiin. Maxfield-Taylor ym. (2015) todensivat ensimmäisen *A. apis* -tartunnan aikuisista kimalaisista (*Bombus griseocollis*, *B. nevadensis* ja *B. vosnesenskii*). *A. apis* -sientä havaittiin kahdeksassa prosentissa 150 tutkitusta kuningatarkimalaisesta. Osa tartunnan saaneista kimalaisista oli peräisin luonnosta ja osa kasvatettu vankeudessa, joten tutkijoilla ei ollut tarkkaa tietoa tartunnan alkuperästä (Maxfield-Taylor ym. 2015). *A. apis* -tartuntoja ei ole raportoitu muilla eläinlajeilla.

**Hoito:** Tauti on yleensä lievä ja tällöin hoidoksi riittää tartunnan saaneita toukkia sisältävien kakkujen tuhoaminen esimerkiksi polttamalla (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003). Voimakkaassa tartunnassa pesä on jo lähtökohtaisesti heikko, jolloin yhteiskunnan hävittäminen on järkevä vaihtoehto (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003).

**Tautiluokitus:** Kalkkisikiötauti luokitellaan koko Suomen alueella muihin eläintauteihin. Sen diagnosointi ei aiheuta lakisääteisiä toimenpiteitä.

#### 4.2.2 Tartunta ja patogeneesi

*A. apis* -itiöt siirtyvät yhteiskunnan sisällä ja yhteiskuntien välillä aikuisten mehiläisten mukana (Aronstein & Murray 2010). Myös pesän rakenteiden (esimerkiksi vaha-kennojen) siirtäminen pesästä toiseen siirtää taudin helposti toiseen pesään, ja taudin kliininen esiintyminen riippuukin suuresti itiöiden määrästä pesän rakenteissa (Flores ym. 2005). Taudin esiintymiseen vaikuttavat sienikantojen virulenssitekijöiden erot sekä mehiläisten geneettisten tekijöiden vaihtelu (Aronstein & Murray 2010).

Tauti kehittyy pääasiassa peittosikiövaiheessa (Flores ym. 2005). *A. apis* infektoi helpoiten 2–4 päivän ikäisiä toukkia ja läpäisee toukan suolen peritrofisen kalvon 4–6 päivän iässä (Evison 2015). *A. apis* tuottaa itiöitä ainoastaan sienen itiöemässä, joka muodostuu kahden eri pariutumistyyppin rihmaston yhdistyessä (Collison & Sheridan 2012). Itiö päättyy toukan suoleen ravinnon mukana, ja suolessa sieni-itiö germinoi. Kasvaessaan sienirihmasto lävistää suolenseinämän peritrofisen kalvon ja tunkeutuu toukan ruumiinonteloon. Sienirihmasto kasvaa toukan ruumiinontelossa ja tunkeutuu ulos toukan takapäästä, ja lopulta valkoinen sienirihmasto peittää toukan kokonaan sisä- ja ulkopuolelta (Theantana & Chantawannakul 2008). Sieni aiheuttaa toukassa häiriöitä hemolymfajärjestelmässä sekä laajoja mekaanisia ja entsyymaattisia vaurioita, jotka lopulta johtavat toukan kuolemaan (Aronstein & Murray 2010). Myöhemmin toukan

jäänteet voivat muuttua tummiksi, ja jokaisessa tummassa muumiossa on  $10^8$ – $10^9$  itiötä (Hornitzky 2001).

#### 4.2.3 Taudinaiheuttamiskyky

Tutkimuksessaan Vojvodic ym. (2011) havaitsivat, että *A. apis* -sienelle optimaalisin lisääntymislämpötila (34 °C) vastaa mehiläispesän lämpötilaa. Toisaalta lyhytaikainen lämpötilan lasku 27 celsiusasteeseen näyttää vauhdittavan infektoituneiden toukkien kuolemaa (Vojvodic ym. 2011). Myöhemmässä tutkimuksessaan Vojvodic ym. (2012) havaitsivat myös yhteisinfektoiden muiden *Ascosphaera*-lajien kanssa mahdollisesti vaikuttavan kalkkisikiötaudin aiheuttamaan kuolleisuuteen. Samanaikainen infektio *A. atra* -sienen kanssa aiheutti mehiläistoukissa selvästi korkeamman kuolleisuuden kuin pelkän *A. apis* -sienen aiheuttama infektio. *A. atra* taas ei yksinään aiheuta mehiläisissä tautia. Toisaalta *A. apis* -lajin yhteisinfektio *A. proliperda* -lajin kanssa ei vaikuttanut toukkien kuolleisuutta lisäävästi (Vojvodic ym. 2012).

*A. apis* -sienellä on useita mekanismeja, joita se käyttää toukan suolen peritrofisen kalvon lävistämiseen, mutta näitä kaikkia ei vielä tunneta. Virulenssitekijöitä ovat kuitenkin ainakin *A. apis* -sienen tuottamat entsyymit kuten proteaasi ja  $\beta$ -N-asetyyli-glukosaminidaasi.  $\beta$ -N-asetyyli-glukosaminidaasi on kitinaasin kaltainen entsyymi, joka pilkkoo N-asetyyli-glukosamiinia eli kitiniin rakenneosasta (Theantana & Chantawannakul 2008). Lisäksi *A. apis* -sieni kykenee mahdollisesti muuttamaan ympäristönsä pH-arvoa heikosti emäksiseen suuntaan, mikä parantaa sen proteaasi-tuotantoa (Theantana & Chantawannakul 2008).

#### 4.2.4 Diagnoosi

Diagnoosi voidaan tehdä kuivuneista, valkean tai mustan värisistä toukan jäännöksistä, joita löytyy usein pesän lentolaudalta, pesän edustalta tai sikiökennoista (Aronstein & Murray 2010). Kalkkisikiöistä etsitään mikroskopoimalla sienirihmaston itiöemiä, joita ei kuitenkaan välttämättä havaita, jos tutkittavana on ainoastaan valkeita kalkkisikiöitä. Tällöin näyte voidaan joutua viljelemään, jotta itiöemiä saadaan näkyviin (Aronstein & Murray 2010). Ruokavirastoon voi lähettää näytteen pesästä tai sen ulkopuolelta löytyneitä kalkkisikiöitä tai palan sikiökakkua, jossa havaitaan tautiin viittaavia muutoksia (Ruokavirasto 2019a).

### 4.3 Kivisikiötauti (*Aspergillus* spp.)

#### 4.3.1 Yleistä

*Aspergillus*-suvun homesieniä on ympäristössä lähes kaikkialla (Vojvodic ym. 2011). Ne elävät pääasiassa maaperässä saprofyytteinä eli käyttävät ravinnokseen mätänevää ainesta. *Aspergillus*-sienet ovat kuitenkin opportunistisia taudinaiheuttajia eli voivat erityistilanteissa aiheuttaa isäntäeläimelle tautia esimerkiksi immunitietin puutostiloissa (Vojvodic ym. 2011).

*Aspergillus*-sienet voivat satunnaisesti aiheuttaa mehiläispesässä toukkien kivisikiötäutia, joka aiheuttaa toukissa samankaltaista muumioitumista ja kuivumista kuin kalkkisikiötauti (Vojvodic ym. 2011). Tarkat olosuhdevaatimukset taudin puhkeamiseen eivät vielä ole täysin selvillä (Foley ym. 2014). *Aspergillus*-lajeista yleisin mehiläisen taudinaiheuttaja on *A. flavus*, mutta myös muita lajeja, kuten *A. nomius* ja *A. phoenicis*, on toisinaan kuvattu osalliseksi kivisikiötaudin aiheuttamisessa (Foley ym. 2014). *Aspergillus*-sienten itiöt voivat olla suun kautta ravinnon mukana saatuina infektiivisiä myös aikuisille mehiläisille (Foley ym. 2014).

**Levinneisyys:** *Aspergillus*-suvun sieniä tavataan kaikkialla maailmassa ja niitä esiintyy mehiläispesissä usein (Foley ym. 2014). Suomessa mehiläisillä ei ole raportoitu kivisikiötautitapauksia.

**Oireet:** Kivisikiötaudin oireet ovat samankaltaiset kalkkisikiötaudin kanssa. Keltaisen, ruskean, vihreän tai mustan värin verhoamia kuolleita toukkia havaitaan tavallisesti sikiökennostossa (katsauksessa Jensen ym. 2013). Kuolleiden toukkien väri riippuu siitä, mikä *Aspergillus*-laji on aiheuttanut taudin – yleisimmin nähdään *A. flavus* -lajin aikaansaamia keltavirheitä kivisikiöitä (katsauksessa Jensen ym. 2013). Pehmeähköistä kalkkisikiöistä poiketen aspergilloosiin kuolleet toukat kuivuvat usein koviksi, jopa kivimäisiksi, ja niiden poistaminen kenoista voi olla vaikeaa (katsauksessa Jensen ym. 2013).

**Selviäminen ympäristössä:** *Aspergillus*-suvun sienet ovat termotolerantteja eli selviävät korkeissakin lämpötiloissa (Foley ym. 2014). *A. flavus* kasvaa monenlaisissa ympäristöolosuhteissa, esimerkiksi mätänevässä kasvi- tai eläinaineksessa (kirjassa Bhatnagar ym. 2014). *A. flavus* voi kasvaa 12–50 celsiusasteen lämpötilassa (Foley ym. 2014) ja selviää kohtalaisen kuivissa olosuhteissa (kirjassa Bhatnagar ym. 2014).

**Tartunnat muihin eläinlajeihin:** Useat *Aspergillus*-sienet, mukaan lukien *A. flavus*, ovat zoonooseja eli tarttuvat eläimestä ihmiseen ja toisinpäin (Foley ym. 2014). Aspergilloosia tiedetään esiintyvän myös kasveilla sekä hyönteisillä ja muilla eläimillä, erityisesti linnuilla (Tell 2005).

**Hoito:** Tartunnan saanut pesä suositellaan hävitettäväksi (kirjassa Kauko & Ruottinen 2003).

**Tautiluokitus:** Kivisikiötauti luokitellaan koko Suomen alueella muihin eläintauteihin. Sen diagnosointi ei aiheuta lakisääteisiä toimenpiteitä.

#### 4.3.2 Tartunta ja patogeneesi

*Aspergillus* infektoi mehiläisen joko suun kautta ravinnonsaannin seurauksena tai kutikulan eli uloimman pintakerroksen läpi (Vojvodic ym. 2011). Kasvaessaan sienirihmasto tunkeutuu *A. apis* -sienen tavoin suolen seinämän peritrofisen kalvon läpi toukan ruumiinonteloon. Kasvavan sienirihmaston aiheuttama mekaaninen kudosaatio sekä entsyymien ja toksien aiheuttamat kemialliset vauriot johtavat toukan kuolemaan (Foley ym. 2014).

#### 4.3.3 Taudinaiheuttamiskyky

*A. flavus* -sientä pidetään virulenssiltaan alhaisena (Foley ym. 2014). Tutkimuksessaan Foley ym. (2014) havaitsivat *A. flavus* -sienen olevan kuitenkin hyvin virulentti mehiläistoukille, vaikka luonnossa sienin aiheuttamat kliiniset infektiot ovat harvinaisia. *A. flavus* oli patogeeninen kaikilla tutkituilla infektiomäärittelyillä ja kuolleisuus oli korkea (Foley ym. 2014). Samankaltaisiin tuloksiin pääsivät tutkimuksessaan Vojvodic ym. (2011). *A. flavus* -infektio vaikuttaa olevan myös annosvasteinen: mitä suurempi infektoiva annos, sitä nopeammin ja varmemmin toukka kuolee (Vojvodic ym. 2011). Lisäksi Foley ym. (2014) havaitsivat tutkimuksessaan *A. flavus* -sienen olevan hyvin infektiivinen myös aikuisille mehiläisille.

Mykotoksiinien osuus toukan kuolemassa on epäselvä. *Aspergillus*-sienten tuottamien terveydelle haitallisten aflatoksiinien uskotaan olevan kivisikiötaudin pääasiallinen kuolinsyy (katsauksessa Jensen ym. 2013). *A. flavus* pystyy tuottamaan myös erilaisia pektinaaseja ja proteaaseja, joita sieni voi käyttää esimerkiksi lävistäessään toukan suolen



peritrofista kalvoa (Foley ym. 2012). Foleyn ym. (2014) mukaan *Aspergillus*-sienet kiertävät helpohkosti aikuisten mehiläisten ja toukkien yksilölliset puolustuskeinot. Yhteiskuntatason puolustusmekanismit aspergilloosia vastaan lienevät kuitenkin merkittäviä, koska taudinpurkaukset eivät ole luonnollisissa olosuhteissa mehiläispesissä yleisiä (Foley ym. 2014).

#### 4.3.4 Diagnoosi

Alustava diagnoosi voidaan tehdä näkyvien oireiden perusteella kuolleista toukista. Varmistettu diagnoosi saadaan kuitenkin kalkkisikiötaudin tapaan mikroskopoiden (katsauksessa Jensen ym. 2013). Näytteeksi voidaan lähettää pesästä löytyneitä kivisikiöitä tai pala sikiökakkua, jossa havaitaan tautiin viittaavia muutoksia (Ruokavirasto 2019a). Konidioforien eli itiöitä muodostavien osien rakenteet ovat tärkeitä *Aspergillus*-lajin määrittämisessä (katsauksessa Jensen ym. 2013).

### 3 POHDINTA

Suomessa esiintyy merkittäviä mehiläistauteja, jotka voivat aiheuttaa vakavaa haittaa tarhatuille mehiläisille. Tässä kirjallisuuskatsauksessa on käsitelty ainoastaan tärkeimpiä bakteeri- ja sienitauteja, mutta mehiläisiä vaivaavat myös useat lois- ja virustaudit. Näistä olisi hyvä koota samankaltainen opas eläinlääkäreiden käyttöön. Lisäksi maailmalla on useita tarhaajille ongelmia aiheuttavia mehiläistauteja, joita ei toistaiseksi ole tavattu Suomessa.

Mehiläispesä on arvoltaan satoja euroja ja yhteen pesään voi vuoden aikana kulua huomattava määrä työtunteja. Vaikka yhden pesän kuolema ei välttämättä ole suuri menetys, tarhaajilla on usein pesiä lähekkäin, jolloin taudit voivat levitä helposti muihin pesiin. Mehiläisten bakteeri- ja sienitaudit eivät kuitenkaan tavallisesti ole näkyvästi esillä tarhaajan arjessa. Taudit harvoin aiheuttavat suurempia ongelmia, ellei pesä muutenkin ole jostain syystä heikentynyt. Esimerkiksi nosematoosin oireita saattaa tällöin esiintyä. Ainut todellisia ongelmia aiheuttava bakteeritauti vaikuttaa tällä hetkellä olevan esikotelomätä sen aiheuttamien rajoittavien määräysten vuoksi. Tautia ei ole

pakko tutkia, mutta jos sitä löytyy, se tuottaa tarhaajalle huomattavasti lisätyötä: kaikki saman tarhan pesät on saneerattava, ja jos lähistöllä on muita mehiläispesiä, myös ne on käsiteltävä esikotelomädän varalta. Tästä syystä jotkut tarhaajat saattavatkin jättää taudin tutkimatta, vaikka sitä pesässä epäilisivätkin. Muita bakteeri- ja sienitauteja (toukkamätä, kalkkisikiö) voi esiintyä ja ne saattavat vaatia pieniä toimenpiteitä, mutta yleensä vahvassa, muuten hyvinvoivassa pesässä ne eivät aiheuta suurempia ongelmia.

Uusia tautiuhkia tulee maailmalta jatkuvasti, etenkin, jos ilmasto Suomessa lämpenee. Mehiläistarhauksessa käytettäviä tarvikkeita on helppo tilata kotiovelle kaikkialta maailmasta, jolloin tautiuhka voi tietämättömyyden tai välinpitämättömyyden vuoksi olla todellinen. Tarhaajat saattavat tilata uusia emoja esimerkiksi Italiasta, jossa tällä hetkellä leviää Euroopan uusin tautitulokas, pieni pesäkuoriainen. Vaikka emojen pitäisi tulla alueilta, joilla ei pesäkuoriaista ole, ei tästä aina voida mennä takuuseen. Varroapunkin ja siivensurkastajaviruksen on havaittu levinneen uusille alueille todennäköisesti juuri tällä tavalla. Suomessa esimerkiksi esikotelomädän leviämistä uusille tarhoille pyritään estämään ostamalla tautivapaita pesiä tai vaatimalla myyjältä tutkimustodistus esikotelomädän varalta (Ruokavirasto 2019b). Tietyillä alueilla mehiläistarhoja voi olla useita muutaman kilometrin säteellä toisistaan, joten jos uusi tauti iskisi jollekin tarhalle esimerkiksi ostomehiläisten mukana, saattaisi se nopeastikin levitä lähiympäristön tarhoille.

Mehiläistaudeista on saatavilla melko paljon kirjallisuutta. Viime vuosina pölyttäjien vähentyminen on aiheuttanut huolta ympäri maailmaa (Geldmann & González-Varo 2018), ja tämä näyttää lisänneen kiinnostusta tarhattuihin mehiläisiin ja niiden tauteihin. Etenkin esikotelomätä, nosematoosi ja varroosi kiinnostavat tutkijoita. Taudeista ja niiden yhteisvaikutuksista haetaan nyt innokkaasti syypäätä pölyttäjien vähentymiselle, mutta toistaiseksi yksittäistä syytä ei ole löytynyt. Ongelma ei ole pienimmästä päästä, sillä suuri osa maailman viljelyskasveista tarvitsee pölytystä, ja jos pölyttäjiä ei ole riittävästi, pölytys on tehtävä muilla, usein kalliimmilla tai vaikeammilla, tavoilla.

Mikä sitten voisi olla taustalla maailman pölyttäjäkadolle? Todennäköisesti on kyse monen tekijän yhteisvaikutuksesta. Itse lähtisinikin jatkossa tutkimaan tautien lisäksi muita pesän ulkopuolisia syitä kuten juuri kasvinsuojeluaineita tai ympäristömyrkyjä. Suomessakin kasvinsuojeluaineiden on havaittu olleen osallisina joihinkin mehiläisyhteiskuntien kuolemiin (Tukes 2016). Erityisesti neonikotinoidien vaikutuksista tarha-mehiläisiin ja luonnon pölyttäjiin on viime vuosina saatu tutkimuksissa huolestuttavia

tuloksia (Woodcock ym. 2017, Tsvetkov ym. 2017). Neonikotinoidit ovat kasvinsuojelua-aineissa käytettäviä hyönteistorjunta-aineita. Euroopan unioni on jo vuonna 2013 kieltänyt tiettyjen neonikotinoidien käytön mehiläisiä houkuttavilla kasveilla (EU 485/2013). Vuonna 2018 EU kielsi kuitenkin kokonaan näiden käytön peltoviljelyssä niiden hunajamehiläisille ja muille pölyttäjille aiheuttaman riskin vuoksi (EU 2018/783, 2018/784, 2018/785). Myös tautivastustukseen on saatu uusia tuulia rokotekehityshankkeessa Helsingin yliopiston bio- ja ympäristötieteellisessä tiedekunnassa: tavoitteena on kehittää rokote alkuun esikotelomätää ja myöhemmin mahdollisesti muita tauteja vastaan (Raukko 2018).

Virkaeläinlääkärit voivat joutua tekemisiin tarhamehiläisten kanssa esimerkiksi EU:n sisämarkkinakauppaan liittyvissä terveystarkastuksissa tai tilanteissa, joissa pesistä löytyy lakisääteisiä toimenpiteitä aiheuttavia tauteja. Tarhaajat ovat usein taitavia havaitsemaan taudit, sillä he hoitavat tavallisesti kaikki tarhaukseen liittyvät toimenpiteet itse ja ovat hyvin selvillä omien mehiläispesiensä tilasta. Tavallisesti tautitorjunnat ja näytteenotot hoituvat ilman eläinlääkärin apua, mutta jos esimerkiksi esikotelomätää löytyy tarhaajan ottamista näytteistä, virkaeläinlääkäri tai valtuutettu tarkastaja tekee tarkastuskäynnin tautiepäilyn varmistamiseksi tai poissulkemiseksi (Evira 2016). Myös rajoittavien määräysten asettaminen kuuluu virkaeläinlääkärin tehtäviin. Mehiläistarhaus saattaa joillekin tarhaajille olla lähinnä vapaa-ajan harrastus, jolloin tautiasioista ei välttämättä ole aivan riittävää tietotasoa. Eläinlääkärillä onkin hyvä olla lisäksi perustiedot mehiläisten tavallisimmista taudeista.

#### 4 LÄHDELUETTELO

- Adjlane N, Haddad N, Kechih S. Comparative study between techniques for the diagnosis of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in honeybee colony. J Anim Vet Adv 2014, 13: 970–973.
- Alonso-Salces RM, Cugnata NM, Guaspari E, Pellegrini MC, Aubone I, De Piano FG, Antunez K, Fuselli SR. Natural strategies for the control of *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood in honey bees: a review. Apidologie 2017, 48: 387–400.
- Aronstein KA, Murray KD. Chalkbrood disease in honey bees. J Invertebr Pathol 2010, 103, Supplement: 20–29.
- Bailey L. The epizootiology of European foulbrood of the larval honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus. J Insect Pathol 1960, 2: 67–83.
- Bailey L. *Nosema apis* and dysentery of the honeybee. J Apicult Res 1967, 6: 121–125.
- Bak B, Wilde J. Grooming behavior by worker bees of various subspecies of honey bees to remove *Varroa destructor* mites. J Apicult Res 2015, 54: 207–215.
- Bhatnagar D, Ehrlich KC, Moore GG. *Aspergillus flavus*. Teoksessa: Batt CA, Tortorello ML (toim.) Encyclopedia of food microbiology. 2. p. Elsevier, 2014: 83.
- Blackiston H. Beekeeping for dummies. 2. p., Wiley Publishing, Inc. 2019.
- Boncristiani H, Underwood R, Schwarz R, Evans JD, Pettis J, van Engelsdorp D. Direct effect of acaricides on pathogen loads and gene expression levels in honey bees *Apis mellifera*. J Insect Physiol 2012, 58: 613–620.
- Borba RS, Spivak M. Propolis envelope in *Apis mellifera* colonies supports honey bees against the pathogen, *Paenibacillus larvae*. Sci Rep 2017, 7: doi: 10.1038/s41598-017-11689-w.
- Botías C, Martín-Hernández R, Barrios L, Meana A, Higes M. *Nosema* spp. infection and its negative effects on honey bees (*Apis mellifera iberiensis*) at the colony level. Vet Res 2013, 44: doi: 10.1186/1297-9716-44-25.

Chen C, Liu Z, Luo Y, Xu Z, Wang S, Zhang X, Dai R, Gao J, Chen X, Guo H, Wang H, Tang J, Shi W. Managed honeybee colony losses of the Eastern honeybee (*Apis cerana*) in China (2011–2014). *Apidologie* 2017, 48: 692–702.

Collison C, Sheridan A. A closer look - chalkbrood II. *Bee Culture* 2012, 140: 21–23.

Couvillon MJ, Riddell Pearce FC, Accleton C, Fensome KA, Quah SKL, Taylor EL, Ratnieks FLW. Honey bee foraging distance depends on month and forage type. *Apidologie* 2015, 46: 61–70.

Danihlík J, Aronstein K, Petřivalský M. Antimicrobial peptides: a key component of honey bee innate immunity. *J Apicult Res* 2015, 54: 123–136.

Djukic M, Brzuszkiewicz E, Fünfhaus A, Voss J, Gollnow K, Poppinga L, Liesegang H, Garcia-Gonzalez E, Genersch E, Daniel R. How to kill the honey bee larva: genomic potential and virulence mechanisms of *Paenibacillus larvae*. *Plos One* 2014, 9: doi: 10.1371/journal.pone.0090914.

Djukic M, Erler S, Leimbach A, Grossar D, Charrière J-D, Gauthier L, Hartken D, Dietrich S, Nacke H, Daniel R, Poehlein A. Comparative genomics and description of putative virulence factors of *Melissococcus plutonius*, the causative agent of European foulbrood disease in honey bees. *Genes-Basel* 2018, 9: doi: 10.3390/genes9080419.

Ebeling J, Fünfhaus A, Knispel H, Krska D, Ravulapalli R, Heney KA, Lugo MR, Merrill AR, Genersch E. Characterization of the toxin Plx2A, a RhoA-targeting ADP-ribosyltransferase produced by the honey bee pathogen *Paenibacillus larvae*. *Environ Microbiol* 2017, 19: 5100–5116.

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira (Evira 2013). Tarttuvat mehiläistaudit ovat yleisiä ja levinneitä Suomessa. <https://www.evira.fi/yhteiset/ajankohtaista/tarttuvat-mehilaistaudit-ovat-yleisia-ja-levinneita-suomessa/>, haettu 28.12.2018, päivitetty 22.2.2013.

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira (Evira 2016). Ohje mehiläisten esikotelomätään liittyvistä viranomaistoimista. *Eviran ohje* 2016: 15329/5.

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira (Evira 2018). Eläintaudit Suomessa 2017. *Eviran julkaisuja* 6/2018: 34-35.

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira ja Helsingin yliopiston eläinlääketieteellinen tiedekunta (Evira & Helsingin yliopisto 2016). Mikroölkäkkeiden käyttösuositukset

eläinten tärkeimpiin tulehdus- ja tartuntatauteihin. [https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/viljelijat/elainten-pito/elainten-laakitseminen/mikrobilaakkeiden\\_kayttosuositukset\\_fi\\_2.pdf](https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/viljelijat/elainten-pito/elainten-laakitseminen/mikrobilaakkeiden_kayttosuositukset_fi_2.pdf), haettu 5.1.2019, päivitetty 2016.

Evans JD, Spivak M. Socialized medicine: individual and communal disease barriers in honey bees. *J Invertebr Pathol* 2010, 103: 62–72.

Evans JD, Aronstein K, Chen YP, Hetru C, Imler J-L, Jiang H, Kanost M, Thompson GJ, Zou Z, Hultmark D. Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Mol Biol* 2006, 15: 645–656.

Evison SE. Chalkbrood: epidemiological perspectives from the host–parasite relationship. *Curr Opin Insect Sci* 2015, 10: 65–70.

Fenoy S. High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Appl Environ Microbiol* 2009, 75: 6886–6889.

Flores JM, Spivak M, Gutiérrez I. Spores of *Ascosphaera apis* contained in wax foundation can infect honeybee brood. *Vet Microbiol* 2005, 108: 141–144.

Foley K, Fazio G, Jensen AB, Hughes WOH. Nutritional limitation and resistance to opportunistic *Aspergillus* parasites in honey bee larvae. *J Invertebr Pathol* 2012, 111: 68–73.

Foley K, Fazio G, Jensen AB, Hughes WOH. The distribution of *Aspergillus* spp. opportunistic parasites in hives and their pathogenicity to honey bees. *Vet Microbiol* 2014, 169: 203–210.

Forsgren E. European foulbrood in honey bees. *J Invertebr Pathol* 2010, 103, Supplement: 5–9.

Forsgren E, Fries I. Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Vet Parasitol* 2010, 170: 212–217.

Forsgren E, Lundhagen AC, Imdorf A, Fries I. Distribution of *Melissococcus plutonius* in honeybee colonies with and without symptoms of European foulbrood. *Microb Ecol* 2005, 50: 369–374.

- Fratini F, Cilia G, Mancini S, Felicioli A. Royal jelly: an ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiol Res* 2016, 192: 130–141.
- Fürst MA, McMahon DP, Osborne JL, Paxton RJ, Brown MJF. Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators. *Nature* 2014, 506: 364–366.
- Garcia-Gonzalez E, Müller S, Hertlein G, Heid N, Süßmuth RD, Genersch E. Biological effects of paenilamicin, a secondary metabolite antibiotic produced by the honey bee pathogenic bacterium *Paenibacillus larvae*. *MicrobiologyOpen* 2014, 3: 642–656.
- Geldmann J, González-Varo JP. Conserving honey bees does not help wildlife. *Science* 2018, 359: 392–393.
- Genersch E, Forsgren E, Pentikäinen J, Ashiralieva A, Rauch S, Kilwinski J, Fries I. Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation. *Int J Syst Evol Micr* 2006, 56: 501–511.
- Goblirsch M, Huang ZY, Spivak M. Physiological and behavioral changes in honey bees (*Apis mellifera*) induced by *Nosema ceranae* infection. *Plos One* 2013, 8: doi: 10.1371/journal.pone.0058165.
- de Graaf DC, Alippi AM, Antúnez K, Aronstein KA, Budge G, Koker DD, De Smet L, Dingman DW, Evans JD, Foster LJ, Fünfhaus A, Garcia-Gonzalez E, Gregore A, Human H, Murray KD, Nguyen BK, Poppinga L, Spivak M, van Engelsdorp D, Wilkins S, Genersch E. Standard methods for American foulbrood research. *J Apicult Res* 2013, 52: 1–28.
- Grady EN, MacDonald J, Liu L, Richman A, Yuan Z-C. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microb Cell Fact* 2016, 15: doi: 10.1186/s12934-016-0603-7.
- Graystock P, Yates K, Darvill B, Goulson D, Hughes WOH. Emerging dangers: deadly effects of an emergent parasite in a new pollinator host. *J Invertebr Pathol* 2013, 114: 114–119.

- Hagler JR, Mueller S, Teuber LR, Machtley SA, Van Deynze A. Foraging range of honey bees, *Apis mellifera*, in alfalfa seed production fields. J Insect Sci 2011, 11: doi: 10.1673/031.011.14401.
- Hatjina F, Gregorc A, Papaefthimiou C, Pappas N, Zacharioudakis S, Thrasyvoulou A, Theophilidis G. Differences in the morphology of prothoracic and propodeal spiracles in three strains of *Apis mellifera*: possible relation to resistance against *Acarapis woodi*. J Apicult Res 2004, 43: 105–113.
- Hernández López J, Schuehly W, Crailsheim K, Riessberger-Gallé U. Trans-generational immune priming in honeybees. Proc R Soc B Biol Sci 2014, 281: doi: 10.1098/rspb.2014.0454.
- Higes M, Martín-Hernández R, Botías C, Bailón EG, González-Porto AV, Barrios L, Nozal MJ del, Bernal JL, Jiménez JJ, Palencia PG, Meana A. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. Environ Microbiol 2008, 10: 2659–2669.
- Hornitzky MAZ. Literature review of chalkbrood, a fungal disease of honeybees: a report for the rural industries research and development corporation. Rural Industries Research and Development Corporation 2001.
- Huang W-F, Solter L, Aronstein K, Huang Z. Infectivity and virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in commercially available North American honey bees. J Invertebr Pathol 2015, 124: 107–113.
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe). *Aethina tumida* in Italy: updates. <https://www.izsvenezie.com/aethina-tumida-in-italy/>, haettu 5.1.2019, päivitetty 3.12.2018.
- Jensen AB, Aronstein K, Flores JM, Vojvodic S, Palacio MA, Spivak M. Standard methods for fungal brood disease research. J Apicult Res 2013, 52: doi: 10.3896/IBRA.1.52.1.13.
- Johnson RM. Toxicogenomics of *Apis mellifera*. Väitöskirja, University of Illinois Urbana-Champaign 2008.



Kandemir I, Cakmak I, Abramson CI, Cakmak SS, Serrano E, Song D, Aydin L, Wells H. A colony defence difference between two honey bee subspecies (*Apis mellifera cypria* and *Apis mellifera caucasica*). J Apicult Res 2012, 51: 169–173.

Kauko L, Ruottinen L. Tarttuvat taudit. Teoksessa: Ruottinen L, Ollikka T, Vartiainen H, Seppälä A (toim.) Mehiläishoitoa käytännössä: osa 1. 2. p. Suomen Mehiläishoitajain Liitto SML ry 2003: 118–146.

Komission täytäntöönpanoasetukset (EU) 2018/783, 2018/784 ja 2018/785, täytäntöönpanoasetuksen (EU) N:o 540/2011 muuttamisesta. Euroopan unionin virallinen lehti L 132, 30.5.2018: 31–44. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2018:132:FULL>, haettu 10.1.2019.

Komission täytäntöönpanoasetus (EU) 485/2013, täytäntöönpanoasetuksen (EU) N:o 540/2011 muuttamisesta siltä osin kuin on kyse tehoaineiden klotianidi, tiametoksaami ja imidaklopridi hyväksymisedellytyksistä sekä kyseisiä tehoaineita sisältävillä kasvinsuojeluaineilla käsiteltyjen siementen käytön ja myynnin kieltämisestä. Euroopan unionin virallinen lehti L 139, 25.5.2013: 12–26. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R0485>, haettu 10.1.2019.

Korpela S, Seppälä A, Ruottinen L. Punkit ja niiden torjunta. Teoksessa: Ruottinen L, Ollikka T, Vartiainen H, Seppälä A (toim.) Mehiläishoitoa käytännössä: osa 1. 2. p. Suomen Mehiläishoitajain Liitto SML ry 2003: 148–171.

Lewkowski O, Erler S. Virulence of *Melissococcus plutonius* and secondary invaders associated with European foulbrood disease of the honey bee. MicrobiologyOpen 2018, e649: doi: 10.1002/mbo3.649.

Li J, Chen W, Wu J, Peng W, An J, Schmid-Hempel P, Schmid-Hempel R. Diversity of *Nosema* associated with bumblebees (*Bombus* spp.) from China. Int J Parasitol 2012, 42: 49–61.

Maa- ja metsätalousministeriön asetus eläintautien ilmoittamisesta ja mikrobikantojen toimittamisesta. MMMa 1010/2013. <https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2013/20131010>, haettu 2.3.2019.

Maa- ja metsätalousministeriön asetus mehiläisten esikotelomädän vastustamisesta. MMMa 2034/14/2014. <https://www.finlex.fi/data/normit/42053/15011fi.pdf>, haettu 2.3.2019.

Maa- ja metsätalousministeriön asetus vastustettavista eläintaukeista ja niiden luokittelusta. MMTa 843/2013. <https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2013/20130843>, haettu 2.3.2019.

Mallinger RE, Gaines-Day HR, Gratton C. Do managed bees have negative effects on wild bees? A systematic review of the literature. *Plos One* 2017, 12(12): 10.1371/journal.pone.0189268.

Martín-Hernández R, Meana A, Prieto L, Salvador AM, Garrido-Bailón E, Higes M. Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl Environ Microbiol* 2007, 73: 6331–6338.

Martín-Hernández R, Botías C, Barrios L, Martínez-Salvador A, Meana A, Mayack C, Higes M. Comparison of the energetic stress associated with experimental *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infection of honeybees (*Apis mellifera*). *Parasitol Res* 2011, 109: 605–612.

Martín-Hernández R, Higes M, Sagastume S, Juarranz Á, Dias-Almeida J, Budge GE, Meana A, Boonham N. *Microsporidia* infection impacts the host cell's cycle and reduces host cell apoptosis. *Plos One* 2017, 12: doi: 10.1371/journal.pone.0170183.

Maxfield-Taylor SA, Mujic AB, Rao S. First detection of the larval chalkbrood disease pathogen *Ascosphaera apis* (Ascomycota: Eurotiomycetes: Ascosphaerales) in adult bumble bees. *Plos One* 2015, 10: doi: 10.1371/journal.pone.0124868.

McKee BA, Djordjevic SP, Goodman RD, Hornitzky MA. The detection of *Melissococcus pluton* in honey bees (*Apis mellifera*) and their products using a hemi-nested PCR. *Apidologie* 2003, 34: 19–27.

McKee BA, Goodman RD, Hornitzky MA. The transmission of European foulbrood (*Melissococcus plutonius*) to artificially reared honey bee larvae (*Apis mellifera*). *J Apicult Res* 2004, 43: 93–100.

McMenamin AJ, Genersch E. Honey bee colony losses and associated viruses. *Curr Opin Insect Sci* 2015, 8: 121–129.

Müller S, Garcia-Gonzalez E, Genersch E, Süssmuth RD. Involvement of secondary metabolites in the pathogenesis of the American foulbrood of honey bees caused by *Paenibacillus larvae*. *Nat Prod Rep* 2015, 32: 765–778.

- Nakamura K, Yamazaki Y, Shiraishi A, Kobayashi S, Harada M, Yoshiyama M, Osaki M, Okura M, Takamatsu D. Virulence differences among *Melissococcus plutonius* strains with different genetic backgrounds in *Apis mellifera* larvae under an improved experimental condition. *Sci Rep* 2016, 6: doi: 10.1038/srep33329.
- Natsopoulou ME, Doublet V, Paxton RJ. European isolates of the *Microsporidia Nosema apis* and *Nosema ceranae* have similar virulence in laboratory tests on European worker honey bees. *Apidologie* 2016, 47: 57–65.
- Neumann P, Carreck NL. Honey bee colony losses. *J Apicult Res* 2010, 49: 1–6.
- Niu G, Johnson RM, Berenbaum MR. Toxicity of mycotoxins to honeybees and its amelioration by propolis. *Apidologie* 2011, 42: 79.
- Nocelli RC, Cintra-Socolowski P, Roat TC, Silva-Zacarin EC, Malaspina O. Comparative physiology of Malpighian tubules: form and function. *Open Access Insect Physiology* 2016, 6: 13–23.
- Peng W, Li J, Boncristiani H, Strange JP, Hamilton M, Chen Y. Host range expansion of honey bee black queen cell virus in the bumble bee, *Bombus huntii*. *Apidologie* 2011, 42: 650–658.
- Pietropaoli M, Formato G. Liquid formic acid 60% to control varroa mites (*Varroa destructor*) in honey bee colonies (*Apis mellifera*): protocol evaluation. *J Apicult Res* 2018, 57: 300–307.
- Plischuk S, Martín-Hernández R, Prieto L, Lucía M, Botías C, Meana A, Abrahamovich AH, Lange C, Higes M. South American native bumblebees (Hymenoptera: Apidae) infected by *Nosema ceranae* (*Microsporidia*), an emerging pathogen of honeybees (*Apis mellifera*). *Env Microbiol Rep* 2009, 1: 131–135.
- Poppinga L, Janesch B, Fünfhaus A, Sekot G, Garcia-Gonzalez E, Hertlein G, Hedtke K, Schäffer C, Genersch E. Identification and functional analysis of the S-layer protein SplA of *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood of honey bees. *Plos Pathog* 2012, 8: doi: 10.1371/journal.ppat.1002716.
- Rauch S, Ashiralieva A, Hedtke K, Genersch E. Negative correlation between individual-insect-level virulence and colony-level virulence of *Paenibacillus larvae*, the etiological agent of American foulbrood of honeybees. *Appl Environ Microb* 2009, 75: 3344–3347.

Raukko E. Maailman ensimmäinen hyönteisrokote PrimeBEE suojaa mehiläisiä taudeilta. <https://www.helsinki.fi/fi/uutiset/kestava-kehitys/maailman-ensimmainen-hyonteisrokote-primebee-suojaa-mehilaisia-taudeilta>, haettu 22.3.2019, päivitetty 31.10.2018.

Rieg S, Bauer TM, Peyerl-Hoffmann G, Held J, Ritter W, Wagner D, Kern WV, Serr A. *Paenibacillus larvae* bacteremia in injection drug users. *Emerg Infect Dis* 2010, 16: 487–489.

Rueppell O, Hayworth MK, Ross NP. Altruistic self-removal of health-compromised honey bee workers from their hive. *J Evolution Bio* 2010, 23: 1538–1546.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019a). Mehiläistautien näytteenotto. <https://www.ruokavirasto.fi/laboratoriopalvelut/elaintautitutkimukset/naytteenotto-ohjeet/mehilaiset/>, haettu 5.1.2019, päivitetty 25.10.2018.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019b). Esikotelomätä. <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-terveys-ja-elaintaudit/elaintaudit/mehilaiset/esikotelomata/>, haettu 21.3.2019, päivitetty 2019.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019c). Mehiläisten sairaudet. <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-terveys-ja-elaintaudit/elaintaudit/mehilaiset/>, haettu 5.1.2019, päivitetty 24.9.2018.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019d). Pieni pesäkuoriainen (SHB). <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-terveys-ja-elaintaudit/elaintaudit/mehilaiset/pieni-pesakuoriainen/>, haettu 5.1.2019, päivitetty 24.9.2018.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019e). *Tropilaelaps* spp. -punkit. <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-terveys-ja-elaintaudit/elaintaudit/mehilaiset/tropilaelaps-spp.-punkit/>, haettu 5.1.2019, päivitetty 24.9.2018.

Ruottinen L, Laaksonen M, Karoniemi P, Siira P, Koski S, Seppälä A. Mehiläisten hoito. Teoksessa: Ruottinen L, Ollikka T, Vartiainen H, Seppälä A (toim.) Mehiläishoitoa käytännössä: osa 1. 2. p. Suomen Mehiläishoitajain Liitto SML ry 2003: 48–116.

Seppälä A. Ajankohtaista mehiläishoidossa – parveilu lähestyy. *Mehiläinen* 2012, 4: 102–103.

Seppälä A. Esikotelomätäasetus vie eläinlääkärit töihin pesille. Suom Eläinlääkäril 2013, 119: 230-233.

Seppälä A, Ruottinen L. Minustako mehiläistarhaaja? Teoksessa: Ruottinen L, Ollikka T, Vartiainen H, Seppälä A (toim.) Mehiläishoitoa käytännössä: osa 1. 2. p. Suomen Mehiläishoitajain Liitto SML ry 2003: 14–47.

Suomen Mehiläishoitajain Liitto SML ry (SML 2018). Mehiläisalan tilastoja ja tietoja. <https://www.mehilaishoitajat.fi/liitto/mehilaisalan-tilastoja-ja-tietoj/>, haettu 5.1.2019.

Teixeira A das D, Marques-Araújo S, Zanuncio JC, Serrão JE. Peritrophic membrane origin in adult bees (Hymenoptera): immunolocalization. Micron 2015, 68: 91–97.

Tell LA. Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. Med Mycol 2005, 43: 71–73.

Theantana T, Chantawannakul P. Protease and  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase of honey bee chalkbrood pathogen *Ascosphaera apis*. J Apicult Res 2008, 47: 68–76.

Tsvetkov N, Samson-Robert O, Sood K, Patel HS, Malena DA, Gajiwala PH, Maciukiewicz P, Fournier V, Zayed A. Chronic exposure to neonicotinoids reduces honey bee health near corn crops. Science (New York, N.Y.) 2017, 356: 1395–1397.

Turvallisuus- ja kemikaalivirasto (Tukes 2016). Tukes kehittää kasvinsuojeluaineiden valvontaa mehiläiskuolemien tutkinnassa. [https://tukes.fi/artikkeli/-/asset\\_publisher/tukes-kehittaa-kasvinsuojeluaineiden-valvontaa-mehilaiskuolemien-tutkinnas-1](https://tukes.fi/artikkeli/-/asset_publisher/tukes-kehittaa-kasvinsuojeluaineiden-valvontaa-mehilaiskuolemien-tutkinnas-1), haettu 14.1.2019, päivitetty 28.1.2016.

Vojvodic S, Jensen AB, James RR, Boomsma JJ, Eilenberg J. Temperature dependent virulence of obligate and facultative fungal pathogens of honeybee brood. Vet Microbiol 2011, 149: 200–205.

Vojvodic S, Boomsma JJ, Eilenberg J, Jensen AB. Virulence of mixed fungal infections in honey bee brood. Front Zool; London 2012, 9: doi: 10.1186/1742-9994-9-5.

Wilfert L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, Boots M. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by varroa mites. Science 2016, 351: 594–597.

Woodcock BA, Bullock JM, Shore RF, Heard MS, Pereira MG, Redhead J, Ridding L, Dean H, Sleep D, Henrys P, Peyton J, Hulmes S, Hulmes L, Sároszpataki M, Saure C, Edwards M, Genersch E, Knäbe S, Pywell RF. Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science* (New York, N.Y.) 2017, 356: 1393–1395.

World Organisation for Animal Health (OIE 2018). Terrestrial animal health code. <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/>, haettu 11.1.2019.

World Organisation for Animal Health (OIE 2019). Disease distribution maps. [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease\\_type\\_hidden=0&disease\\_id\\_hidden=181&selected\\_disease\\_name\\_hidden=Tropilaelaps+infestation+of+honey+bees+%28-+-%29+&disease\\_type=0&disease\\_id\\_terrestrial=181&species\\_t=2&disease\\_id\\_aquatic=-999&species\\_a=0&sta\\_method=semesterly&selected\\_start\\_year=2018&selected\\_report\\_period=1&selected\\_start\\_month=1](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease_type_hidden=0&disease_id_hidden=181&selected_disease_name_hidden=Tropilaelaps+infestation+of+honey+bees+%28-+-%29+&disease_type=0&disease_id_terrestrial=181&species_t=2&disease_id_aquatic=-999&species_a=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2018&selected_report_period=1&selected_start_month=1), haettu 11.1.2019.

Yang D, Pan L, Peng P, Dang X, Li C, Li T, ym. Interaction between SWP9 and polar tube proteins of the *Microsporidian Nosema bombycis* and function of SWP9 as a scaffolding protein contribute to polar tube tethering to the spore wall. *Infect Immun* 2017, 85: doi: 10.1128/IAI.00872-16.

Zhang X, He SY, Evans JD, Pettis JS, Yin GF, Chen YP. New evidence that deformed wing virus and black queen cell virus are multi-host pathogens. *J Invertebr Pathol* 2012, 109: 156–159.